

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
18. Juli 2002 (18.07.2002)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 02/055693 A2

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: C12N 15/11

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP02/00152

(22) Internationales Anmeldedatum:
9. Januar 2002 (09.01.2002)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
101 00 586.5 9. Januar 2001 (09.01.2001) DE
101 55 280.7 26. Oktober 2001 (26.10.2001) DE
101 58 411.3 29. November 2001 (29.11.2001) DE
101 60 151.4 7. Dezember 2001 (07.12.2001) DE

LIMMER, Stephan [DE/DE]; Universitätsstrasse 30,
95447 Bayreuth (DE). ROST, Sylvia [DE/DE]; Univer-
sitätsstrasse 30, 95447 Bayreuth (DE). HADWIGER,
Philipp [DE/DE]; Universitätsstrasse 30, 95447 Bayreuth
(DE).

(74) Anwalt: GASSNER, Wolfgang; Nägelsbachstrasse 49a,
91052 Erlangen (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (*national*): AE, AG, AL, AM, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR,
CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE,
GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR,
KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK,
MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU,
SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG,
US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(71) Anmelder (*für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von
US*): RIBOPHARMA AG [DE/DE]; Universitätsstrasse
30, 95447 Bayreuth (DE).

(72) Erfinder; und

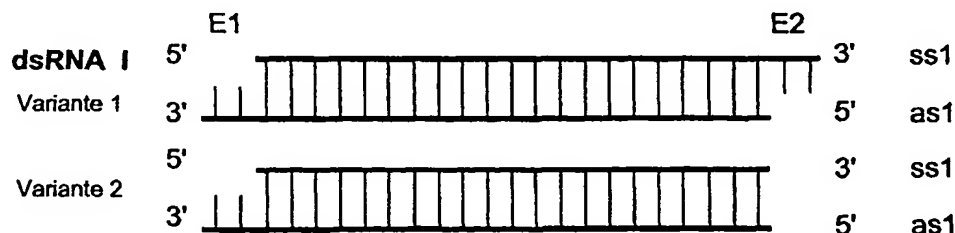
(75) Erfinder/Anmelder (*nur für US*): KREUTZER, Roland
[DE/DE]; Universitätsstrasse 30, 95447 Bayreuth (DE).

(84) Bestimmungsstaaten (*regional*): ARIPO-Patent (GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW),
eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,
TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK,
ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR),
OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW,
ML, MR, NE, SN, TD, TG).

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: METHOD FOR INHIBITING THE EXPRESSION OF A TARGET GENE

(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUR HEMMUNG DER EXPRESSION EINE ZIELGENS



(57) Abstract: The invention relates to a method for inhibiting the expression of a target gene in a cell, comprising the following steps: introduction of an amount of at least one dual-stranded ribonucleic acid (dsRNA I) which is sufficient to inhibit the expression of the target gene. The dsRNA I has a dual-stranded structure formed by a maximum of 49 successive nucleotide pairs. One strand (as1) or at least one section of the one strand (as1) of the dual-stranded structure is complementary to the sense strand of the target gene. The dsRNA has an overhang on the end (E1) of dsRNA I formed by 1 - 4 nucleotides.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Hemmung der Expression eines Zielgens in einer Zelle umfassend die folgenden Schritte: Einführen-mindestens einer doppelsträngigen Ribonukleinsäure (dsRNA I) in einer zur Hemmung der Expression des Zielgens ausreichenden Menge, wobei die dsRNA I eine doppelsträngige aus höchstens 49 aufeinanderfolgenden Nukleotidpaaren gebildete Struktur aufweist, und wobei ein Strang (as1) oder zumindest ein Abschnitt des einen Strangs (as1) der doppelsträngigen Struktur komplementär zum Sinn-Strang des Zielgens ist, und wobei die dsRNA am einen Ende (E1) der dsRNA I einen aus 1 bis 4 Nukleotiden gebildeten überhang aufweist.

WO 02/055693 A2



Veröffentlicht:

— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

Verfahren zur Hemmung der Expression eines Zielgens

Die Erfindung betrifft ein Verfahren, eine Verwendung und ein Medikament zur Hemmung der Expression eines Zielgens.

5

Aus der WQ 99/32619 sowie der WO 00/44895 sind Verfahren zur Hemmung der Expression von medizinisch oder biotechnologisch interessanten Genen mit Hilfe einer doppelsträngigen Ribonukleinsäure (dsRNA) bekannt. Die bekannten Verfahren sind zwar
10 hoch effektiv. Es besteht gleichwohl das Bedürfnis, deren Effizienz weiter zu steigern.

Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es, die Nachteile nach dem Stand der Technik zu beseitigen. Es sollen insbesondere
15 ein Verfahren, eine Verwendung und ein Medikament angegeben werden, mit denen eine noch effizientere Hemmung der Expression eines Zielgens erreichbar ist.

Diese Aufgabe wird durch die Merkmale der Ansprüche 1, 41 und
20 81 gelöst. Vorteilhafte Ausgestaltungen ergeben sich aus den Merkmalen der Ansprüche 2 bis 40, 42 bis 80 und 82 bis 120.

Mit den erfindungsgemäß beanspruchten Merkmalen wird überraschenderweise eine drastische Erhöhung der Effektivität der
25 Hemmung der Expression eines Zielgens in vitro und in vivo erreicht. Durch die besondere Ausbildung der Enden der dsRNA kann sowohl deren Effizienz bei der Vermittlung der hemmenden Wirkung auf die Expression eines Zielgens als auch deren Stabilität gezielt beeinflusst werden. Durch die Vergrößerung der
30 Stabilität wird die wirksame Konzentration in der Zelle erhöht.

Unter einem "Zielgen" im Sinne der Erfindung wird der DNA-Strang der doppelsträngigen DNA in der Zelle verstanden, welcher
35 komplementär zu einem bei der Transkription als Matrize dienenden DNA-Strang einschließlich aller transkribierten Be-

reiche ist. Bei dem "Zielgen" handelt es sich also im allgemeinen um den Sinnstrang. Der eine Strang bzw. Antisinnstrang (as1) kann komplementär zu einem bei der Expression des Zielgens gebildeten RNA-Transkript oder deren Prozessierungsprodukt, z.B. eine mRNA, sein. Unter "Einführen" wird die Aufnahme in die Zelle verstanden. Die Aufnahme kann durch die Zelle selbst erfolgen; sie kann auch durch Hilfsstoffe oder Hilfsmittel vermittelt werden. Unter einem "Überhang" wird ein endständiger einzelsträngiger Überstand verstanden, welcher nicht nach Watson & Crick gepaarte Nukleotide aufweist. Unter einer "doppelsträngigen Struktur" wird eine Struktur verstanden, bei der die Nukleotide der Einzelstränge im Wesentlichen nach Watson & Crick gepaart sind. Im Rahmen der vorliegenden Erfindung kann eine doppelsträngige Struktur auch einzelne Fehlpaarungen ("Mismatches") aufweisen.

Nach einer besonders vorteilhaften Ausgestaltung weist die dsRNA I den Überhang am 3'-Ende des einen Strangs bzw. Antisinnstrangs as1 und/oder am 3'-Ende des anderen Strangs bzw. Sinnstrangs ss1 auf. Die dsRNA I kann auch an einem Ende glatt ausgebildet sein. In diesem Fall befindet sich das glatte Ende vorteilhafterweise auf der Seite der dsRNA I, die das 5'-Ende des einen Strangs (Antisinnstrang; as1). In dieser Ausbildung zeigt die dsRNA I einerseits eine sehr gute Effektivität und andererseits eine hohe Stabilität im lebenden Organismus. Die Effektivität insgesamt in vivo ist hervorragend. Der Überhang ist zweckmäßigerweise aus 1 bis 4 Nukleotiden, vorzugsweise aus 1 oder 2 Nukleotiden, gebildet.

Nach einem weiteren Ausgestaltungsmerkmal kann die Effektivität des Verfahrens weiter erhöht werden, wenn zumindest eine entsprechend der erfindungsgemäßen dsRNA I ausgebildete weitere dsRNA II in die Zelle eingeführt wird, wobei der eine Strang oder zumindest ein Abschnitt des einen Strangs der doppelsträngigen Struktur der dsRNA I komplementär zu einem ersten Bereich des Sinnstrangs des Zielgens ist, und wobei

ein weiterer Strang oder zumindest ein Abschnitt des weiteren Strangs der doppelsträngigen Struktur der weiteren dsRNA II komplementär zu einem zweiten Bereich des Sinnstrangs des Zielgens ist. Die Hemmung der Expression des Zielgens ist in diesem Fall deutlich gesteigert. Der erste und der zweite Bereich können abschnittsweise überlappen, aneinander grenzen oder auch voneinander beabstandet sein.

Es hat sich weiter als vorteilhaft erwiesen, wenn die dsRNA I und/oder die weitere dsRNA II eine Länge von weniger als 25 aufeinander folgenden Nukleotidpaaren aufweisen. Als besonders effektiv hat sich eine Länge im Bereich zwischen 19 und 23 Nukleotidpaaren erwiesen. Die Effizienz kann weiter gesteigert werden, wenn an den vorzugsweise aus 19 bis 23 Nukleotidpaaren gebildeten Doppelsträngen einzelsträngige Überhänge von 1 bis 4 Nukleotiden vorhanden sind.

Das Zielgen kann nach einem weiteren Ausgestaltungsmerkmal eine der in dem anhängenden Sequenzprotokoll wiedergegebenen Sequenzen SQ001 bis SQ140 aufweisen. Es kann auch aus der folgenden Gruppe ausgewählt sein: Onkogen, Cytokin-Gen, Id-Protein-Gen, Priongen, Gene zur Expression von Angiogenese induzierenden Molekülen, von Adhäsions-Molekülen und Zelloberflächenrezeptoren, Gene von Proteinen, die an metastasierenden und/oder invasiven Prozessen beteiligt sind, Gene von Proteinasen sowie Apoptose- und Zellzyklus-regulierende Molekülen sowie Gene zur Expression des EGF-Rezeptors. Beim Zielgen kann es sich insbesondere um das MDR1-Gen handeln. Es kann in diesem Zusammenhang eine der Sequenzen SQ141 - 173 bestehende bzw. ein aus jeweils zusammengehörenden Antisinn (as)- und Sinnsequenzen (ss) kombinierte dsRNA I/II verwendet werden.

Nach einem weiteren vorteilhaften Ausgestaltungsmerkmal wird die Expression nach dem Prinzip der RNA-Interferenz gehemmt.

Das Zielgen wird zweckmäßigerweise in pathogenen Organismen, vorzugsweise in Plasmodien, exprimiert. Es kann Bestandteil eines Virus oder Viroids, insbesondere eines humanpathogenen Virus oder Viroids, sein. Das Virus oder Viroid kann auch ein
5 tier- oder pflanzenpathogenes Virus oder Viroid sein.

Nach einem weiteren Ausgestaltungsmerkmal ist vorgesehen, dass die ungepaarten Nukleotide durch Nukleosidthiophosphate substituiert sind.

10

Zumindest ein Ende der dsRNA I/II kann modifiziert werden, um einem Abbau in der Zelle oder einer Dissoziation in die Einzelstränge entgegenzuwirken. Vorteilhafterweise wird dazu der durch die komplementären Nukleotidpaare bewirkte Zusammenhalt
15 der doppelsträngigen Struktur durch mindestens eine chemische Verknüpfung erhöht. Die chemische Verknüpfung kann durch eine kovalente oder ionische Bindung, eine Wasserstoffbrückenbindung, hydrophobe Wechselwirkungen, vorzugsweise van-der-Waals- oder Stapelungswechselwirkungen, oder durch Metall-
20 Ionenkoordination gebildet werden. Es hat sich weiter als zweckmäßig und die Stabilität erhöhend erwiesen, wenn die chemische Verknüpfung in der Nähe des einen Endes gebildet ist. Weitere vorteilhafte Ausgestaltungen hinsichtlich der chemischen Verknüpfung können den Merkmalen der Ansprüche 24
25 bis 30 entnommen werden, ohne dass es dafür einer näheren Erläuterung bedarf.

Die dsRNA I/II kann dann besonders einfach in die Zelle eingeschleust werden, wenn sie in micellare Strukturen, vorteil-
30 hafterweise in Liposomen, eingeschlossen wird. Zum Transport der dsRNA I/II in die Zelle hat es sich auch als vorteilhaft erwiesen, dass diese an mindestens ein von einem Virus stammendes, davon abgeleitetes oder ein synthetisch hergestelltes virales Hüllprotein gebunden, damit assoziiert oder davon um-
35 geben werden. Das Hüllprotein kann vom Polyomavirus abgeleitet sein. Das Hüllprotein kann insbesondere das Virus-Protein

1 und/oder das Virus-Protein 2 des Polyomavirus enthalten. Nach einer weiteren Ausgestaltung ist vorgesehen, dass bei Bildung eines Kapsids oder kapsidartigen Gebildes aus dem Hüllprotein die eine Seite zum Inneren des Kapsids oder kapsidartigen Gebildes gewandt ist. Ferner ist es von Vorteil, dass der eine Strang der dsRNA I/II (as1/2) zum primären oder prozessierten RNA-Transkript des Zielgens komplementär ist. Die Zelle kann eine Vertebratenzelle oder eine menschliche Zelle sein.

10

Weiterhin hat es sich gezeigt, dass die dsRNA I/II vorteilhafterweise bereits in einer Menge von höchstens 5 mg/kg Körpergewicht pro Tag einem Säugetier, vorzugsweise einem Menschen, verabreicht werden kann. Bereits in dieser geringen Dosis wird eine ausgezeichnete Effektivität erzielt.

15

Überraschenderweise hat sich gezeigt, dass die dsRNA I/II zur Applikation in eine Pufferlösung aufgenommen und dann oral oder mittels Injektion oder Infusion intravenös, intratumoral, inhalativ, intraperitoneal verabreicht werden kann.

20

Erfindungsgemäß ist weiterhin die Verwendung einer doppelsträngigen Ribonukleinsäure (dsRNA I) zur Hemmung der Expression eines Zielgens in einer Zelle vorgesehen, wobei die dsRNA I eine doppelsträngige aus höchstens 49 aufeinander folgenden Nukleotidpaaren gebildete Struktur aufweist, und wobei ein Strang (Antisinnstrang; as1) oder zumindest ein Abschnitt des einen Strangs (as1) der doppelsträngigen Struktur komplementär zum Sinnstrang des Zielgens ist, und wobei die dsRNA I zumindest an einem Ende einen aus 1 bis 4 Nukleotiden gebildeten Überhang aufweist.

25

30

Nach weiterer Maßgabe der Erfindung ist ein Medikament zur Hemmung der Expression eines Zielgens in einer Zelle vorgesehen, enthaltend eine doppelsträngige Ribonukleinsäure (dsRNA I) in einer zur Hemmung der Expression des Zielgens ausrei-

35

chenden Menge, wobei die dsRNA I eine doppelsträngige aus höchstens 49 aufeinander folgenden Nukleotidpaaren Struktur aufweist, und wobei ein Strang (as1) oder zumindest ein Abschnitt des einen Strangs (as1) der doppelsträngigen Struktur
5 komplementär zum Sinnstrang des Zielgens ist, und wobei die dsRNA I zumindest an einem Ende einen aus 1 bis 4 Nukleotiden gebildeten Überhang aufweist.

Wegen der weiteren vorteilhaften Ausgestaltung der dsRNA I/II
10 wird auf die vorangegangenen Ausführungen verwiesen.

Die Erfindung wird nachfolgend anhand der Zeichnungen und Ausführungsbeispiele beispielhaft erläutert. Es zeigen:

15 Fig. 1a, b schematisch eine erste und zweite doppelsträngige RNA und

Fig. 2 schematisch ein Zielgen,

20 Fig. 3 relative YFP-Fluoreszenz nach Applikation verschiedener dsRNA in NIH/3T3-Zellen (erstes Experiment),

Fig. 4 relative YFP-Fluoreszenz nach Applikation verschiedener dsRNA in NIH/3T3-Zellen (zweites Experiment),
25

Fig. 5 relative YFP-Fluoreszenz nach Applikation verschiedener dsRNA in NIH/3T3-Zellen (drittes Experiment),
30

Fig. 6 relative YFP-Fluoreszenz nach Applikation verschiedener dsRNA in NIH/3T3-Zellen (viertes Experiment),
35

- Fig. 7 relative YFP-Fluoreszenz nach Applikation verschiedener dsRNA in HeLa-S3-Zellen (fünftes Experiment),
- 5 Fig. 8 fluoreszenzmikroskopische Aufnahmen von NIH/3T3-Zellen nach Transfektion mit pcDNA-YFP bzw nach Kotransfektion mit pcDNA-YFP und verschiedenen dsRNAs,
- 10 Fig. 9 fluoreszenzmikroskopische Aufnahmen von HeLa-S3-Zellen nach Transfektion mit pcDNA-YFP bzw. nach Kotransfektion mit pcDNA-YFP und verschiedenen dsRNAs,
- 15 Fig. 10 gelelektrophoretische Auftrennung von S1 nach Inkubation in Maus-Serum,
- Fig. 11 gelelektrophoretische Auftrennung von S1 nach Inkubation in humanem Serum,
- 20 Fig. 12 gelelektrophoretische Auftrennung von S7 nach Inkubation in Maus-Serum,
- Fig. 13 gelelektrophoretische Auftrennung von S7 nach Inkubation in humanem Serum,
- 25 Fig. 14 gelelektrophoretische Auftrennung von K3 nach Inkubation in Maus-Serum,
- 30 Fig. 15 gelelektrophoretische Auftrennung von PKC1/2 nach Inkubation in Maus-Serum,
- Fig. 16 gelelektrophoretische Auftrennung von S1A/S4B nach Inkubation in humanem Serum,

- Fig. 17 gelelektrophoretische Auftrennung von K2 nach Inkubation in humanem Serum und
- Fig. 18 GFP-spezifische Immunoperoxidase-Färbung an
5 Nieren-Paraffinschnitten transgener GFP-Mäuse,
- Fig. 19 GFP-spezifische Immunoperoxidase-Färbung an Herz-Paraffinschnitten transgener GFP-Mäuse,
- 10 Fig. 20 GFP-spezifische Immunoperoxidase-Färbung an Pankreas-Paraffinschnitten transgener GFP-Mäuse,
- Fig. 21 Western-Blot-Analyse der GFP-Expression im
15 Plasma,
- Fig. 22 Western-Blot-Analyse der GFP-Expression in der Niere,
- 20 Fig. 23 Western-Blot-Analyse der GFP-Expression im Herz,
- Fgi. 24 Western-Blot-Analyse der EGFR-Expression in U-
87 MG Glioblastom-Zellen,
25
- Fig. 25a Northern-Blot-Analyse des MDRI mRNA-Niveaus in der Kolonkarzinom-Zelllinie LS174T, wobei die Zellen nach 74 Stunden geerntet wurden,
- 30 Fig. 25b Quantifizierung der Banden nach Fig. 25a, wobei die Mittelwerte aus zwei Werten dargestellt sind,
- Fig. 26a Northern-Blot-Analyse des MDRI mRNA-Niveaus in
35 der Kolonkarzinom-Zelllinie LS174T, wobei die Zellen nach 48 Stunden geerntet wurden,

Fig. 26b Quantifizierung der Banden nach Fig. 26a, wobei die Mittelwerte aus zwei Werten dargestellt sind,

5

Fig. 27 vergleichende Darstellung einer durchlicht- und fluoreszenzmikroskopischen Aufnahme einer Transfektion mit 175 nM dsRNA (Sequenz R1 in Tabelle 4).

10

Die in den Fig. 1a und 1b schematisch gezeigten doppelsträngigen Ribonukleinsäuren dsRNA I und dsRNA II weisen jeweils ein erstes Ende E1 und ein zweites Ende E2 auf. Die erste und die zweite Ribonukleinsäure dsRNA I/dsRNAII weisen an ihren
15 beiden Enden E1 und E2 einzelsträngige, aus etwa 1 bis 4 ungepaarten Nukleotiden gebildete Abschnitte auf. Es sind zwei mögliche Varianten dargestellt (Variante 1 und 2), wobei Variante 2 ein glattes Ende (E2) aufweist. Das glatte Ende kann jedoch auch in einer weiteren Variante am anderen Ende (E1)
20 liegen.

In Fig. 2 ist schematisch ein auf einer DNA befindliches Zielgen gezeigt. Das Zielgen ist durch einen schwarzen Balken kenntlich gemacht. Es weist einen ersten Bereich B1 und einen
25 zweiten Bereich B2 auf.

Jeweils der eine Strang der ersten dsRNA I (as1) bzw. der zweiten dsRNA II (as2) ist komplementär zum entsprechenden Bereich B1 bzw. B2 auf dem Zielgen.

30

Die Expression des Zielgens wird dann besonders wirkungsvoll gehemmt, wenn die dsRNA I/dsRNA II an ihren Enden E1, E2 einzelsträngige Abschnitte aufweist. Die einzelsträngigen Abschnitte können sowohl am Strang as1 oder as2 als auch am Gegenstrang (ss1 bzw. ss2) oder am Strang as1, as2 und am Gegenstrang ausgebildet sein.

35

Die Bereiche B1 und B2 können, wie in Fig. 2 gezeigt, von einander beabstandet sein. Sie können aber auch aneinander grenzen oder überlappen.

5

I. Hemmung der Expression des YFP-Gens in Fibroblasten:

Es wurden aus Sequenzen des Yellow Fluorescent Proteine (YFP), einer Variante des GFP (Grün-fluoreszierendes Protein) der Alge *Aequoria victoria* abgeleitete doppelsträngige RNAs (dsRNAs) hergestellt und zusammen mit einem YFP-kodierenden Plasmid in Fibroblasten mikroinjiziert. Anschließend wurde die Fluoreszenzabnahme gegenüber Zellen ohne dsRNA ausgewertet.

Versuchsprotokoll:

Mittels eines RNA-Synthesizer (Typ Expedite 8909, Applied Biosystems, Weiterstadt, Deutschland) und herkömmlicher chemischer Verfahren wurden die aus den Sequenzprotokollen SQ148, 149 und SQ159 ersichtlichen RNA-Einzelstränge und die zu ihnen komplementären Einzelstränge synthetisiert. Anschließend erfolgte die Reinigung mit Hilfe der HPLC. Die Hybridisierung der Einzelstränge zum Doppelstrang erfolgte durch Erhitzen des stöchiometrischen Gemischs der Einzelstränge in 10 mM Natriumphosphatpuffer, pH 6,8, 100 mM NaCl, auf 90°C und nachfolgendes langsames Abkühlen über 6 Stunden auf Raumtemperatur. Die so erhaltenen dsRNAs wurden in die Testzellen mikroinjiziert.

Als Testsystem für diese Zellkultur-Experimente diente die murine Fibroblasten-Zelllinie NIH/3T3, ECACC No. 93061524 (European Collection of Animal Cell Culture). Für die Mikroinjektionen wurde das Plasmid pcDNA-YFP verwendet, das ein 800bp großes Bam HI/Eco RI-YFP-Fragment in den entsprechenden Restriktionsschnittstellen des Vectors pcDNA3 enthält. Die Expression des YFP wurde unter dem Einfluß gleichzeitig mit-transfizierter sequenzhomologer dsRNA untersucht. Die Auswer-

tung unter dem Fluoreszenzmikroskop erfolgte frühestens 3 Stunden nach Injektion anhand der grünen Fluoreszenz.

Vorbereitung der Zellkulturen:

5 Die Kultivierung der Zellen erfolgte in DMEM mit 4,5 g/l Glucose, 10 % fötalem Kälberserum (FCS), 2 mM L-Glutamin, Penicillin/Streptomycin (100 IE/100 µg/ml, Biochrom) im Brutschrank unter 5 % CO₂-Atmosphäre bei 37°C. Die Zellen wurden alle 3 Tage passagiert, um sie in der exponentiellen Wachstumsphase zu halten. Einen Tag vor der Durchführung der
10 Transfektion wurden die Zellen trypsiniert (10x Trypsin/TEDTA, Biochrom) und mit einer Zelldichte von 0,3 x 10⁵ Zellen in beschichteten Petrischalen (CORNING® Cell Culture Dish, 35 mm, Corning Inc., Corning, USA) ausgesät. Die Petrischalen wurden mit 0,2 % Gelatine (Biochrom) für mindestens
15 30 Minuten bei 37°C inkubiert, einmal mit PBS gewaschen und sofort für die Aussaat der Zellen verwendet. Um ein Wiederfinden individueller Zellen zu ermöglichen, wurden CELLocate Coverslips der Fa. Eppendorf (Square size 55 µm) verwendet.

20

Mikroinjektion:

Zur Durchführung der Mikroinjektion wurden die Petrischalen ca. 10 Minuten aus dem Brutschrank genommen. Pro Schale und Ansatz wurden ca. 50 Zellen mikroinjiziert (FemtoJet; Mikro-
25 manipulator 5171, Eppendorf). Für die Mikroinjektion wurden Glaskapillaren (FemtoTip) der Firma Eppendorf mit einem Spitzeninnendurchmesser von 0,5 µm verwendet. Die Injektionsdauer betrug 0,8 Sekunden und der Druck 30 hPa. Durchgeführt wurden die Mikroinjektionen an einem Olympus IX50 Mikroskop mit
30 Fluoreszenzeinrichtung. Als Injektionspuffer wurde 14 mM NaCl, 3 mM KCl, 10 mM KH₂PO₄, pH 7,0 verwendet, der 0,01 µg/µl pcDNA-YFP enthielt. Zur Überprüfung einer erfolgreichen Mikroinjektion wurde der Injektionslösung jeweils 0,08% (w/v) an Dextran-70000 gekoppeltes Texas-Rot (Molecular Probes, Leiden, Niederlande) zugesetzt. Um die Inhibition der YFP-
35 Expression mit spezifischer dsRNA zu untersuchen, wurden der

Injektionslösung dsRNAs zugegeben: Ansatz 1: 0,1 μ M dsRNA (Sequenzprotokoll SQ148/149); Ansatz 2: 0,1 μ M dsRNA (Sequenzprotokoll SQ148/159); Ansatz 3: ohne RNA. Nach der Mikroinjektion wurden die Zellen für mindestens drei weitere
5 Stunden im Brutschrank inkubiert. Danach wurden die intrazelluläre YFP-Fluoreszenz am Mikroskop ausgewertet:
gleichzeitig rot und grün-fluoreszierende Zellen: Mikroinjektion war erfolgreich, es wird keine Inhibition der YFP-Expression durch dsRNA beobachtet; bzw. es handelt sich um
10 Kontrollzellen, in die keine dsRNA injiziert wurde;
nur rot-fluoreszierende Zellen: Mikroinjektion war erfolgreich, die dsRNA inhibiert YFP-Expression.

Ergebnisse:

15 Bei einer dsRNA-Konzentration von 0,1 μ M konnte beim Einsatz der dsRNA mit den an beiden 3'-Enden um je zwei Nukleotide überstehenden Einzelstrangbereichen (Sequenzprotokoll SQ148/159) eine merklich erhöhte Hemmung der Expression des YFP-Gens in Fibroblasten beobachtet werden im Vergleich zur
20 dsRNA ohne überstehende Einzelstrangenden (Tabelle 1).

Die Verwendung von kurzen, 19-25 Basenpaare enthaltenden, dsRNA-Molekülen mit Überhängen aus wenigen, vorzugsweise 1 bis 3 nicht-basengepaarten, einzelsträngigen Nukleotiden er-
25 möglicht somit eine vergleichsweise stärkere Hemmung der Genexpression in Säugerzellen als die Verwendung von dsRNAs mit derselben Anzahl von Basenpaaren ohne die entsprechenden Einzelstrangüberhänge bei jeweils gleichen RNA-Konzentrationen.

Ansatz	Name	Sequenzprotokoll-Nr.	0.1 μ M
1	S1A/ S1B	SQ148 SQ149	+
2	S1A/ S4B	SQ148 (überstehende Enden) SQ159	+++
3		ohne RNA	-

Tabelle 1: Die Symbole geben den relativen Anteil an nicht oder schwach grün-fluoreszierenden Zellen an (+++ > 90%; ++ 60-90%; + 30-60%; - < 10%).

5

II. Hemmung der Genexpression eines Zielgens in kultivierten HELA-S3-Zellen und Mausfibroblasten durch dsRNA:

- 10 Die Effektivität der Inhibition der YFP-Expression nach transien-
ter Transfektion eines YFP-codierenden Plasmids auf der
Basis der RNA-Interferenz mit dsRNAs läßt sich durch Gestal-
tung der 3'-Enden und der Länge des basengepaarten Bereichs
modulieren.

15

Ausführungsbeispiel:

- Zum Wirksamkeitsnachweis der dsRNA bei der spezifischen Inhi-
bition der Genexpression wurden transient transfizierte
20 NIH/3T3-Zellen (Fibroblasten aus NIH Swiss Mausembryo, ECCAC
(European collection of animal cell culture) Nr. 93061524)
und HELA-S3 (humane cervikale Karzinomzellen, DSMZ (Deutsche
Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen) Nr. ACC 161)
verwendet. Für die Transfektion wurde das Plasmid pcDNA-YFP
25 verwendet, das ein 800 bp großes Bam HI /Eco RI-YFP-Fragment
in den entsprechenden Schnittstellen des Vektors pcDNA3 ent-
hält. Aus der Sequenz des gelb-fluoreszierenden Proteins
(YFP) abgeleitete doppelsträngige RNAs (dsRNAs) wurden herge-

stellt und zusammen mit dem Plasmid pcDNA-YFP transient in die Fibroblasten transfiziert (Die verwendeten spezifischen dsRNAs sind in ihren Antisinn-Strängen komplementär zu entsprechenden Abschnitten der Gensequenzen von sowohl YFP als auch GFP). Nach 48 Stunden wurde die Fluoreszenzabnahme quantifiziert. Als Kontrollen fungierten Zellen, die entweder nur mit pcDNA-YFP oder mit pcDNA-YFP und einer Kontroll-dsRNA (nicht aus der YFP-Sequenz abgeleitet) transfiziert wurden.

10 Versuchsprotokoll:

dsRNA-Synthese:

Mittels eines RNA-Synthesizers (Typ Expedite 8909, Applied Biosystems, Weiterstadt, Deutschland) und herkömmlicher chemischer Verfahren wurden die aus den Sequenzprotokollen ersichtlichen RNA-Einzelstränge und die zu ihnen komplementären Einzelstränge synthetisiert. Anschließend erfolgte die Reinigung der rohen Syntheseprodukte mit Hilfe der HPLC. Verwendet wurde die Säule NucleoPac PA-100, 9x250 mm, der Fa. Dionex; als Niedersalz-Puffer 20 mM Tris, 10 mM NaClO₄, pH 6,8, 10% Acetonitril und als Hochsalz-Puffer 20 mM Tris, 400 mM NaClO₄, pH 6,8, 10% Acetonitril. Der Fluß betrug 3 ml/Minute. Die Hybridisierung der Einzelstränge zum Doppelstrang erfolgte durch Erhitzen des stöchiometrischen Gemischs der Einzelstränge in 10 mM Natriumphosphatpuffer, pH 6,8, 100 mM NaCl, auf 80-90°C und nachfolgendes langsames Abkühlen über 6 Stunden auf Raumtemperatur.

Aussaat der Zellen:

30 Alle Zellkulturarbeiten wurden unter sterilen Bedingungen in einer entsprechenden Werkbank (HS18, Hera Safe, Kendro, Heraeus) durchgeführt. Die Kultivierung der NIH/3T3-Zellen und der HELA-S3 erfolgte im Brutschrank (CO₂-Inkubator T20, Hera cell, Kendro, Heraeus) bei 37°C, 5% CO₂ und gesättigter

Luftfeuchtigkeit in DMEM (Dulbecco`s modified eagle medium, Biochrom), für die Mausfibroblasten, und Ham`s F12 für die HELA-Zellen mit 10% FCS (fetal calf serum, Biochrom), 2 mM L-Glutamin (Biochrom) und Penicillin/Streptomycin (100 IE/100 µg/ml, Biochrom). Um die Zellen in der exponentiellen Wachstumsphase zu halten, wurden die Zellen alle 3 Tage passagiert. 24 Stunden vor der Durchführung der Transfektion wurden die Zellen trypsiniert (10x Trypsin/EDTA, Biochrom, Deutschland) und mit einer Zelldichte von $1,0 \times 10^4$ Zellen/Vertiefung in einer 96-Loch-Platte (Multiwell Schalen 96-Well Flachboden, Labor Schubert & Weiss GmbH) in 150 µl Wachstumsmedium ausgesät.

15

Durchführung der transienten Transfektion:

Die Transfektion wurde mit Lipofectamine Plus™ Reagent (Life Technologies) gemäß den Angaben des Herstellers durchgeführt. Pro Well wurden 0,15 µg pcDNA-YFP-Plasmid eingesetzt. Das Gesamt-Transfektionsvolumen betrug 60 µl. Es wurden jeweils 3-fach-Proben angesetzt. Die Plasmid-DNA wurde zuerst zusammen mit der dsRNA komplexiert. Dazu wurde die Plasmid-DNA und die dsRNA in serumfreiem Medium verdünnt und pro 0,1 µg Plasmid-DNA 1 µl PLUS Reagent eingesetzt (in einem Volumen von 10 µl) und nach dem Mischen für 15 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Während der Inkubation wurde pro 0,1 µg Plasmid-DNA 0,5 µl Lipofectamine in insgesamt 10 µl serumfreiem Medium verdünnt, gut gemischt, zu dem Plasmid/dsRNA/PLUS-Gemisch zugegeben und nochmals 15 Minuten inkubiert. Während der Inkubation wurde ein Mediumwechsel durchgeführt. Die Zellen wurden dazu 1 x mit 200 µl serumfreiem Medium gewaschen und danach mit 40 µl serumfreiem Medium bis zur Zugabe von DNA/dsRNA/PLUS/Lipofectamine weiter im Brutschrank inkubiert. Nach der Zugabe von 20 µl DNA/dsRNA/PLUS/Lipofectamine pro

Well wurden die Zellen für 2,5 Stunden im Brutschrank inkubiert. Anschließend wurden die Zellen nach der Inkubation 1 x mit 200 µl Wachstumsmedium gewaschen und für 24 Stunden bis zur Detektion der Fluoreszenz in 200 µl Wachstumsmedium im
5 Brutschrank inkubiert.

Detektion der Fluoreszenz:

24 Stunden nach dem letzten Mediumwechsel wurde die Fluoreszenz der Zellen am Fluoreszenz-Mikroskop (IX50-S8F2, Fluoreszenz-Einheit U-ULS100Hg, Brenner U-RFL-T200, Olympus) mit einer
10 USH-I02D-Quecksilber-Lampe (USHIO Inc., Tokyo, Japan), ausgestattet mit einem WIB-Fluoreszenz-Würfel und einer digitalen CCD-Kamera (Orca IIIm, Hamamatsu) und C4742-95 Kamera-Controller) photographiert. Die Auswertung der Fluoreszenzaufnahmen erfolgte mit der analysis-Software 3.1 (Soft
15 Imaging Sytem GmbH, Deutschland). Um die YFP-Fluoreszenz in Relation zur Zelldichte zu setzen, wurde eine Zellkernfärbung (Hoechst-Staining) durchgeführt. Dazu wurden die Zellen in 100 µl Methylcarnoy (75% Methanol, 25% Eisessig) zuerst für 5
20 und danach nochmals für 10 Minuten in Methylcarnoy fixiert. Nach dem Lufttrocknen wurden die fixierten Zellen für 30 Minuten im Dunkeln mit 100 µl pro Well Hoechst-Farbstoff (75 ng/ml) inkubiert. Nach 2maligem Waschen mit PBS (PBS Dulbecco w/o Ca²⁺, Mg²⁺, Biochrom) wurden die Hoechst-gefärbten Zellen
25 len unter dem Fluoreszenz-Mikroskop (Olympus, WU-Fluoreszenz-Würfel für Hoechst) photographiert.

In den Fig. 3 bis 9 sind die Ergebnisse zur Inhibition der YFP-Expression durch dsRNA in kultivierten Zellen zusammengefasst:

30

In Fig. 3, 4, 5 und 6 sind die Effekte von YFP-spezifischen dsRNAs und von Kontroll-dsRNAs auf die YFP-Expression in NIH/3T3-Mausfibroblasten nach transienter Transfektion zusammengefasst. Die Experimente wurden wie im Versuchsprotokoll

beschrieben durchgeführt. Die Konzentration der dsRNA bezieht sich auf die Konzentration im Medium während der Transfektionsreaktion. Die Bezeichnungen für die dsRNAs sind der Tabelle 2 zu entnehmen. Dargestellt ist die relative Fluoreszenz pro Bildausschnitt in Flächenprozent. Pro Well wurden 3 verschiedene Bildausschnitte ausgewertet. Die Mittelwerte ergeben sich aus den 3-fach-Ansätzen.

In den Fig. 7 und 9 ist die spezifische Inhibition der YFP-Genexpression durch dsRNAs in HELA-S3-Zellen dargestellt.

10 In Fig. 7 ist die hemmende Wirkung unterschiedlich gestalteter dsRNA-Konstrukte (Tabelle 2) in verschiedenen Konzentrationen auf die Expression von YFP in HeLa-Zellen dargestellt. Fig. 8 zeigt repräsentative fluoreszenzmikroskopische Aufnahmen von transient mit YFP transfizierten NIH/3T3-Maus-

15 fibroblasten ohne dsRNA und mit spezifisch gegen YFP gerichteten dsRNAs (x 100 Vergrößerung).

8A: YFP-Kontrolle

8B: S1, 10 nM

8C: S4, 10 nM

20 8D: S7, 10 nM

8E: S7/S11, 1 nM

8F: S7/S12, 1 nM

Fig. 9 zeigt repräsentative fluoreszenzmikroskopische Aufnahmen von transient mit YFP transfizierten HELA-3S-Zellen ohne dsRNA und mit spezifisch gegen YFP gerichteten dsRNAs (x 100 Vergrößerung).

9A: K2-Kontrolle, 10 nM

9B: S1, 10 nM

30 9C: S4, 10 nM

9D: S7, 10 nM

9E: S7/11, 1 nM

9F: S7/12, 1 nM

9G: S1A/S4B, 10 nM

9H: YFP-Kontrolle

Ergebnisse:

- 5 Fig. 3 zeigt, dass die YFP-Expression nach transienter
Kotransfektion von Mausfibroblasten mit dem YFP-Plasmid und
spezifisch gegen die YFP-Sequenz gerichteten dsRNAs dann be-
sonders wirkungsvoll gehemmt wird, wenn die 3'-Enden der 22
und 19 Basenpaare enthaltenden Bereiche der dsRNAs einzel-
10 strängige Abschnitte von 2 Nukleotiden (nt) aufweisen. Wäh-
rend die dsRNA S1 mit glatten 3'-Enden bei einer Konzentrati-
on von 1 nM (bezogen auf die Konzentration im Zellkultur-
Medium während der Durchführung der Transfektion) keine inhi-
bitorischen Effekte auf die YFP-Expression zeigt, inhibieren
15 die dsRNAs S7 (19 Nukleotidpaare) und S4 (22 Nukleotidpaare)
mit jeweils 2nt Überhängen an beiden 3'-Enden die YFP-
Expression um 50 bzw. um 70% im Vergleich zu den entsprechen-
den Kontroll-dsRNAs K3 und K2. Bei einer Konzentration von 10
nM inhibiert die als S1 bezeichnete dsRNA mit glatten Enden
20 die YFP-Expression um ~65%, während die Inhibition der YFP-
Expression durch die S4 dsRNA ~93% beträgt (Fig. 4). Der in-
hibitorische Effekt der mit S4 und S7 bezeichneten dsRNAs ist
konzentrationsabhängig (Fig. 3 und 4, siehe auch Fig. 7).
- 25 Fig. 4 zeigt, dass für die effiziente Unterdrückung der YFP-
Genexpression die einzelsträngige Ausbildung nicht an beiden
3'-Enden (auf Sinn- und Antisinn-Strang) notwendig ist. Um
eine möglichst effektive Inhibition der YFP-Expression zu er-
reichen, ist lediglich der 2nt-Überhang am 3'-Ende auf dem
30 Antisinn-Strang notwendig. So liegt die Inhibition der YFP-
Expression bei einer Konzentration von 1 nM bei den beiden
dsRNAs S4 (mit 2nt-Überhängen auf beiden 3'-Enden) und
S1A/S4B (mit einem 2nt-Überhang auf dem 3'-Ende des Antisinn-
Stranges) bei ~70%. Befindet sich dagegen der 2nt-Überhang

auf dem 3'-Ende des Sinn-Stranges (und das 3'-Ende des Antisinn-Stranges trägt keinen einzelsträngigen Bereich), so liegt die Inhibition der YFP-Genexpression lediglich bei 50%. Analog ist die Inhibition bei höheren Konzentrationen deutlich besser, wenn mindestens das 3'-Ende des Antisinn-Stranges einen 2nt-Überhang trägt.

Eine deutlichere Hemmung der YFP-Expression wird erreicht, wenn der basengepaarte Bereich 21 Nukleotid-Paare statt 22 (S1 und S4), 20 (S13 bzw. S13/14) oder 19 (S7) umfasst (Fig. 5, 6 und 7). So beträgt die Inhibition der YFP-Expression durch S1 (22 Basenpaarungen mit glatten Enden) in einer Konzentration von 5 nM ~40%, während die Inhibition durch S7/S12 (21 Basenpaarungen mit glatten Enden), ebenfalls mit 5 nM bei ~92% liegt. Weist die dsRNA mit 21 Basenpaarungen noch einen 2nt-Überhang am Antisinnstrang-3'-Ende (S7/S11) auf, so liegt die Inhibition bei ~ 97% (verglichen mit ~73% Inhibition durch S4 und ~70% Inhibition durch S7).

20

III. Untersuchung der Serumstabilität der doppelsträngigen RNA (dsRNA):

Ziel ist es, die in den Zellkulturen gefundene Effektivität der durch dsRNAs vermittelten Hemmung der Genexpression von Zielgenen für den Einsatz *in vivo* zu steigern. Dies wird durch eine verbesserte Stabilität der dsRNAs im Serum und durch eine daraus resultierende verlängerte Verweilzeit des Moleküls im Kreislauf bzw. die damit verbundenen erhöhte-wirksame- Konzentration des funktionellen Moleküls erreicht.

30

Ausführungsbeispiel:

Die Serumstabilität der die GFP-Expression hemmenden dsRNAs wurde *ex vivo* in murinem und humanem Serum getestet.

Versuchsprotokoll:

5

Die Inkubation mit humanem bzw. murinem Serum mit der entsprechenden dsRNA erfolgte bei 37°C. Es wurden je 85 µl Serum mit 15 µl 100µM dsRNA inkubiert. Nach bestimmten Inkubationszeiten (30 min, 1h, 2h, 4h, 8h, 12h, 24h) wurden die Proben
10 bei -80°C eingefroren. Als Kontrolle wurde dsRNA ohne Serum (+85 µl ddH₂O) und dsRNA mit Serum zum Zeitpunkt 0 verwendet.

Für die Isolierung der dsRNA aus dem Inkubationsansatz, die auf Eis erfolgte, wurden jeweils 400 µl 0,1% SDS zu den An-
15 sätzen gegeben und diese einer Phenolextraktion unterzogen: Pro Ansatz wurden 500 µl Phenol : Chloroform : Isoamylalkohol (IAA, 25:24:1, Roti®-Phenol, Roth, Karlsruhe) zugegeben und für 30 sec auf höchster Stufe gevortext (Vortex Genie-2; Scientific Industries). Nach 10minütiger Inkubation auf Eis
20 erfolgte die Phasentrennung durch Zentrifugation bei 12.000xg, 4°C, für 10 min (Sigma 3K30, Rotor 12131-H). Die obere wässrige Phase (ca. 200 µl) wurde abgenommen und zuerst einem DNase I- und danach einem Proteinase K - Verdau unterzogen: Zugabe von 20 µl 10xfach DNaseI-Puffer (100 mM Tris,
25 pH 7,5, 25 mM MgCl₂, 1 mM CaCl₂) und 10 U DNase I (D7291, Sigma-Aldrich), 30 min Inkubation bei 37°C, erneute Zugabe von 6 U DNase I und Inkubation für weitere 20 min bei 37°C, Zugabe von 5 µl Proteinase K (20 mg/ml, 04-1075, Peqlab, Deutschland) und 30 min Inkubation bei 37°C. Danach wurde ei-
30 ne Phenolextraktion durchgeführt. Dazu wurde 500 µl Phenol : Chloroform : IAA (25:24:1) zugegeben, 30 sec auf höchster Stufe gevortext, 10 min bei 12.000xg, 4°C, zentrifugiert, der Überstand abgenommen und nacheinander mit 40 µl 3 M Na-Ac (Natriumacetat), pH 5,2, und 1 ml 100% EtOH versetzt, dazwi-

- schen gut gemischt und für mindestens 1 h bei -80°C gefällt. Das Präzipitat wurde durch Zentrifugation bei $12.000\times g$ für 30 min und 4°C pelletiert, mit 70% EtOH gewaschen und erneut zentrifugiert (10 min, $12.000\times g$, 4°C). Das luftgetrocknete
- 5 Pellet wurde in 30 μl RNA-Gelauftragspuffer (7 M Harnstoff, 1 x TBE (0,09 M Tris-Borat, 0,002 M EDTA (Ethyldiamintetraacetat), 0,02% (w/v) Bromphenolblau, 0,02% (w/v) Xylencyanol) aufgenommen und bis zum Gelauftrag bei -20°C gelagert.
- 10 Zur Charakterisierung der dsRNA wurde eine analytische, denaturierende Polyacrylamid-Gelelektrophorese (analytische PAGE) durchgeführt. Die Harnstoffgele wurden kurz vor dem Lauf hergestellt: 7M Harnstoff (21g) wurde in 25 ml 40% wässrige Acrylamid/Bisacrylamid Stammlösung (Rotiphorese-Gel, A515.1,
- 15 Roth) und 5 ml 10 x TBE (108 g Tris, 55 g Borsäure, 9,3 g EDTA pro L Aqua dest.) unter Rühren gelöst und auf 50 ml mit Aqua dest. aufgefüllt. Kurz vor dem Gießen wurden 50 μl TEMED (N,N,N',N'-Tetramethylethyldiamin) und 500 μl 10% APS (Ammoniumperoxidisulfat) zugesetzt. Nach dem Auspolymerisieren
- 20 wurde das Gel in eine vertikale Elektrophorese-Apparatur (Merck, Darmstadt) eingesetzt und ein Vorlauf für 30 min bei konstant 40 mA Stromstärke durchgeführt. Als Laufpuffer wurde 1 x TBE-Puffer verwendet. Vor dem Auftrag auf das Gel wurden die RNA-Proben für 5 min bei 100°C erhitzt, auf Eis abgekühlt
- 25 und für 20 sec in einer Tischzentrifuge (Eppendorf, minispin) abzentrifugiert. Es wurden je 15 μl auf das Gel aufgetragen. Der Lauf erfolgte für ca. 2h bei einem konstanten Stromfluß von 40 mA. Nach dem Lauf wurde das Gel 30 min bei RT (Raumtemperatur) mit Stains all-Färbelösung (20 ml Stains all
- 30 Stammlösung (200 mg Stains all in 200 ml Formamid gelöst) mit 200 ml Aqua dest. und 180 ml Formamid versetzt) gefärbt und die Hintergrundfärbung danach durch Spülen in Aqua dest. für 45 min entfernt. Die Gele wurden mit dem Photodokumentationssystem Image Master VDS von Pharmacia photographiert.

Die Fig. 10 bis 17 zeigen die Serumstabilität der dsRNA nach Inkubation mit humanem bzw. murinem Serum und nachfolgender elektrophoretischer Auftrennung im 20%igem 7M Harnstoffgel.

5 **Fig. 10: Inkubation von S1 (0-22-0) in Maus-Serum**

1. zum Zeitpunkt 0 (ohne Serum)
2. zum Zeitpunkt 0
3. für 30 Minuten
4. für 1 Stunde
- 10 5. für 2 Stunden
6. für 4 Stunden
7. für 12 Stunden
8. 2 μ l 100 μ M S1 ohne Inkubation
- S1A) Sinnstrang S1 (10 μ l 20 μ M S1A)
- 15 S1B) Antisinnstrang S1 (10 μ l 20 μ M S1B)

Fig. 11: Inkubation von S1 (0-22-0) in humanem Serum

1. 2 μ l 100 μ M S1 unbehandelt (ohne Inkubation)
2. für 30 Minuten
3. für 2 Stunden
- 20 4. für 4 Stunden
5. für 6 Stunden
6. für 8 Stunden
7. für 12 Stunden
8. für 24 Stunden
- 25 S1A) Sinnstrang S1 (10 μ l 20 μ M S1A)
- S1B) Antisinnstrang S1 (10 μ l 20 μ M S1B)

Fig. 12: Inkubation von S7 (2-19-2) in Maus-Serum

1. zum Zeitpunkt 0 (ohne Serum)
2. für 30 Minuten
- 30 3. für 4 Stunden
4. für 12 Stunden

Fig. 13: Inkubation von S7 (2-19-2) in humanem Serum

1. Sinnstrang S7 (10 μ l 20 μ M S7A)

2. Antisinnstrang S7 (10 μ l 20 μ M S7B)
3. für 30 Minuten
4. für 1 Stunde
5. für 2 Stunden
- 5 6. für 4 Stunden
7. für 6 Stunden
8. für 12 Stunden
9. für 24 Stunden
10. zum Zeitpunkt 0 (ohne Serum)

10 **Fig. 14: Inkubation von K3 (2-19-2) in Maus-Serum**

1. Sinnstrang K3 (10 μ l 20 μ M K3A)
2. Antisinnstrang K3 (10 μ l 20 μ M K3B)
3. zum Zeitpunkt 0 (ohne Serum)
4. zum Zeitpunkt 0 (mit Serum)
- 15 5. für 30 Minuten
6. für 1 Stunde
7. für 2 Stunden
8. für 4 Stunden
9. für 12 Stunden

20 **Fig. 15: Inkubation von PKC1/2 (0-22-2) in Maus-Serum**

1. für 30 Minuten
2. für 1 Stunde
3. für 2 Stunden
4. für 4 Stunden
- 25 5. für 12 Stunden
6. 2 μ l 100 μ M PKC1/2 (unbehandelt)

Fig. 16: Inkubation von S1A/S4B (0-22-2) in humanem Serum

1. zum Zeitpunkt 0 (ohne Serum)
2. für 24 Stunden
- 30 3. für 12 Stunden
4. für 8 Stunden
5. für 6 Stunden
6. für 4 Stunden

7. für 2 Stunden
8. für 30 Minuten
9. Sinnstrang S1A (10 μ l 20 μ M S1A)
10. Antisinnstrang S4B (10 μ l 20 μ M S4B)

5 **Fig. 17: Inkubation von K2 (2-22-2) in humanem Serum**

1. Sinnstrang K2 (10 μ l 20 μ M K2A)
2. Antisinnstrang K2 (10 μ l 20 μ M K2B)
3. zum Zeitpunkt 0 (ohne Serum)
4. für 30 Minuten
- 10 5. für 2 Stunden
6. für 4 Stunden
7. für 6 Stunden
8. für 8 Stunden
9. für 12 Stunden
- 15 10. für 24 Stunden

Ergebnisse:

dsRNAs ohne einzelsträngige Bereiche an den 3'-Enden sind im
20 Serum sowohl von Mensch und Maus wesentlich stabiler als
dsRNAs mit einzelsträngigen 2nt-Überhängen an den 3'-Enden
(Fig. 10 bis 14 und 17). Nach 12 bzw. 24 Stunden Inkubation
von S1 in murinem bzw. humanem Serum ist noch immer eine Ban-
de in der ursprünglichen Größe fast vollständig erhalten. Da-
25 gegen nimmt bei dsRNAs mit 2nt-Überhängen an beiden 3'-Enden
die Stabilität in humanem als auch im murinen Serum deutlich
ab. Bereits nach 4 Stunden Inkubation von S7 (Fig. 12 und 13)
oder K3 (Fig. 14) ist keine Bande in der Originalgröße mehr
detektierbar.

30

Um die Stabilität von dsRNA im Serum zu erhöhen, ist es aus-
reichend, wenn die dsRNA ein glattes Ende besitzt. Im Maus-
Serum ist nach 4 Stunden Inkubation (Fig. 15, Bahn 4) die

Bande in der Originalgröße kaum abgebaut im Vergleich zu S7 (nach 4 Stunden vollständiger Abbau; Fig. 12, Bahn 3).

- Als optimaler Kompromiß hinsichtlich der biologischen Wirksamkeit von dsRNA kann die Verwendung von dsRNA mit einem glattem Ende und einem einzelsträngigem Bereich von 2 Nukleotiden angesehen werden, wobei sich der einzelsträngige Überhang am 3'-Ende des Antisinn-Stranges befinden sollte.
- 10 Die hier verwendeten Sequenzen sind aus der nachstehenden Tabelle 2 und den Sequenzprotokollen SQ148-151 und 153-167 ersichtlich.

Name	Sequenz- proto- koll-Nr.	dsRNA-Sequenz	
S1	SQ148 SQ149	(A) 5'- CCACAUGAAGCAGCACGACUUC -3' (B) 3'- GGUGUACUUCGUCGUGCUGAAG -5'	0-22-0
S7	SQ150 SQ151	(A) 5'- CCACAUGAAGCAGCACGACUU -3' (B) 3'- CUGGUGUACUUCGUCGUGCUG -5'	2-19-2
K1	SQ153 SQ154	(A) 5'- ACAGGAUGAGGAUCGUUUCGCA -3' (B) 3'- UGUCCUACUCCUAGCAAAGCGU -5'	0-22-0
K3	SQ155 SQ156	(A) 5'- GAUGAGGAUCGUUUCGCAUGA -3' (B) 3'- UCCUACUCCUAGCAAAGCGUA -5'	2-19-2
K2	SQ157 SQ158	(A) 5'- ACAGGAUGAGGAUCGUUUCGCAUG -3' (B) 3'- UCUGUCCUACUCCUAGCAAAGCGU -5'	2-22-2
S1A/ S4B	SQ148 SQ159	(A) 5'- CCACAUGAAGCAGCACGACUUC -3' (B) 3'- CUGGUGUACUUCGUCGUGCUGAAG -5'	0-22-2

PKC 1/2	SQ160 SQ161	(A) 5'- CUUCUCCGCCUCACACCGCUGCAA -3' (B) 3'- GAAGAGGCGGAGUGUGGCGACG -5'	2-22-0
S7/S12	SQ150 SQ162	(A) 5'- CCACAUGAAGCAGCACGACUU -3' (B) 3'- GGUGUACUUCGUCGUGCUGAA -5'	0-21-0
S7/S11	SQ150 SQ163	(A) 5'- CCACAUGAAGCAGCACGACUU -3' (B) 3'- CUGGUGUACUUCGUCGUGCUGAA -5'	0-21-2
S13	SQ164 SQ165	(A) 5'- CCACAUGAAGCAGCACGACU -3' (B) 3'- CUGGUGUACUUCGUCGUGCUGA -5'	0-20-2
S13/14	SQ164 SQ166	(A) 5'- CCACAUGAAGCAGCACGACU -3' (B) 3'- GGUGUACUUCGUCGUGCUGA -5'	0-20-0
S4	SQ167 SQ159	(A) 5'- CCACAUGAAGCAGCACGACUUCUU -3' (B) 3'- CUGGUGUACUUCGUCGUGCUGAAG -5'	2-22-2
K1A/ K2B	SQ153 SQ158	(A) 5'- ACAGGAUGAGGAUCGUUUCGCA -3' (B) 3'- UCUGUCCUACUCCUAGCAAAGCGU -5'	0-22-2
K1B/ K2A	SQ154 SQ157	(A) 5'- ACAGGAUGAGGAUCGUUUCGCAUG -3' (B) 3'- UGUCCUACUCCUAGCAAAGCGU -5'	2-22-0
S1B/ S4A	SQ149 SQ167	(A) 5'- CCACAUGAAGCAGCACGACUUCUU -3' (B) 3'- GGUGUACUUCGUCGUGCUGAAG -5'	2-22-0

Tabelle 2

IV. In vivo-Studie:

5

Es wurde „GFP-Labormäusen“, die das Grün-fluoreszierende Protein (GFP) in allen Proteinbiosynthese betreibenden Zellen exprimieren, doppelsträngige RNA (dsRNA), die aus der GFP-Sequenz abgeleitet wurde, bzw. unspezifische dsRNA intravenös

10 in die Schwanzvene injiziert. Am Versuchsende wurden die Tie-

re getötet und die GFP-Expression in Gewebeschnitten und im Plasma analysiert.

Versuchsprotokoll:

5

Synthese der dsRNA:

Mittels eines RNA-Synthesizers (Typ Expedite 8909, Applied Biosystems, Weiterstadt, Deutschland) und herkömmlicher chemischer Verfahren wurden die aus den Sequenzprotokollen ersichtlichen RNA-Einzelstränge und die zu ihnen komplementären Einzelstränge synthetisiert. Anschließend erfolgte die Reinigung der rohen Syntheseprodukte mit Hilfe der HPLC. Als Säulen wurden NucleoPac PA-100, 9x250 mm der Fa. Dionex, verwendet; als Niedersalz-Puffer 20 mM Tris, 10 mM NaClO₄, pH 6,8, 10% Acetonitril und als Hochsalz-Puffer 20 mM Tris, 400 mM NaClO₄, pH 6,8, 10% Acetonitril. Der Fluß betrug 3 ml/Minute. Die Hybridisierung der Einzelstränge zum Doppelstrang erfolgte durch Erhitzen des stöchiometrischen Gemischs der Einzelstränge in 10 mM Natriumphosphatpuffer, pH 6,8, 100 mM NaCl, auf 80-90°C und nachfolgendes langsames Abkühlen über 6 Stunden auf Raumtemperatur.

Versuchstierhaltung und Versuchsdurchführung:

Es wurde der transgene Labormausstamm TgN(GFPU)5Nagy (The Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME, USA) verwendet, der GFP (mit einem beta-Aktin-Promotor und einem CMV intermediate early enhancer) in allen bisher untersuchten Zellen exprimiert (Hadjantonakis AK et al., 1993, Mech. Dev. 76: 79-90; Hadjantonakis AK et al., 1998 Nature Genetics 19: 220-222). GFP-transgene Mäuse lassen sich eindeutig anhand der Fluoreszenz (mit einer UV-Handlampe) von den entsprechenden Wildtypen (WT) unterscheiden. Für die Zucht wurde jeweils der entsprechende WT mit einem heterozygotem GFP-Typ verpaart.

Die Versuchsdurchführung erfolgte gemäß den deutschen Tier-
schutzbestimmungen. Die Tiere wurden unter kontrollierten Um-
weltbedingungen in Gruppen von 3-5 Tieren in Typ III Makro-
lon-Käfigen der Fa. Ehret, Emmendingen, bei einer konstanten
5 Temperatur von 22°C und einem Hell-Dunkel-Rhythmus von 12h
gehalten. Als Sägemehleinstreu wurde Weichholzgranulat 8/15
der Fa. Altromin, Lage, verwendet. Die Tiere erhielten Lei-
tungswasser und Standardfutter Altromin 1324 pelletiert (Al-
tromin) ad libitum.

10

Für die Versuchsdurchführung wurden die heterozygoten GFP-
Tiere zu je 3 Tieren gruppenweise in Käfigen wie oben be-
schrieben gehalten. Die Injektionen der dsRNA-Lösung erfolg-
ten intravenös (i.v.) in die Schwanzvene im 12h-Turnus (zwi-
15 schen 5³⁰ und 7⁰⁰ sowie zwischen 17³⁰ und 19⁰⁰ Uhr) über 5 Tage
hinweg. Das Injektionsvolumen betrug 60 µl pro 10 g Körperge-
wicht und die Dosis betrug 2,5 mg dsRNA bzw. 50 µg pro kg
Körpergewicht. Die Einteilung in die Gruppen war wie folgt:

- 20 Gruppe A: PBS (phosphate buffered saline) je 60 µl pro
 10 g Körpergewicht,
- Gruppe B: 2,5 mg pro kg Körpergewicht einer unspezifi-
 schen Kontroll-dsRNA (K1-Kontrolle mit glatten
25 Enden und einem Doppelstrangbereich von 22 Nu-
 kleotidpaaren),
- Gruppe C: 2,5 mg pro kg Körpergewicht einer weiteren un-
 spezifischen Kontroll-dsRNA (K3-Kontrolle mit
30 2nt-Überhängen an beiden 3'-Enden und einem
 Doppelstrangbereich von 19 Nukleotidpaaren),
- Gruppe D: 2,5 mg pro kg Körpergewicht dsRNA (spezifisch
 gegen GFP gerichtet, im weiteren als S1 be-

zeichnet, mit glatten Enden und einem Doppelstrangbereich von 22 Nukleotidpaaren),

- Gruppe E: 2,5 mg dsRNA pro kg Körpergewicht (spezifisch gegen GFP gerichtet, im Weiteren als S7 bezeichnet, mit 2nt-Überhängen an den 3'-Enden beider Stränge und einem Doppelstrangbereich von 19 Nukleotidpaaren)
- 10 Gruppe F: 50 µg S1-dsRNA pro kg Körpergewicht (also 1/50 der Dosis der Gruppe D).

Nach der letzten Injektion von insgesamt 10 Injektionen wurden die Tiere nach 14-20h getötet und Organe und Blut wie beschrieben entnommen.

Organentnahme:

Sofort nach dem Töten der Tiere durch CO₂-Inhalation wurden Blut und verschiedene Organe entnommen (Thymus, Lunge, Herz, Milz, Magen, Darm, Pankreas, Gehirn, Niere und Leber). Die Organe wurden kurz in kaltem, sterilem PBS gespült und mit einem sterilen Skalpell zerteilt. Ein Teil wurde für immunhistochemische Färbungen in Methyl Carnoys (MC, 60% Methanol, 30% Chloroform, 10% Eisessig) für 24h fixiert, ein Teil für Gefrierschnitte und für Proteinisolierungen sofort in flüssigem Stickstoff schockgefroren und bei -80°C gelagert und ein weiterer, kleinerer Teil wurde für RNA-Isolierungen in RNAeasy-Protect (Qiagen) bei -80°C eingefroren. Das Blut wurde sofort nach der Entnahme 30 min auf Eis gehalten, gemixt, 5 min bei 2000 rpm (Mini spin, Eppendorf) zentrifugiert, der Überstand abgenommen und bei -80°C gelagert (hier als Plasma bezeichnet).

Prozessieren der Biopsien:

Nach 24h Fixierung der Gewebe in MC wurden die Gewebestücke in einer aufsteigenden Alkoholreihe bei RT (Raumtemperatur) dehydriert: je 40 min 70% Methanol, 80% Methanol, 2 x 96% Methanol und 3 x 100% Isopropanol. Danach wurden die Gewebe
5 in 100% Isopropanol auf 60°C im Brutschrank erwärmt, nachfolgend für 1h in einem Isopropanol/Paraffin-Gemisch bei 60°C und 3 x für 2h in Paraffin inkubiert und sodann in Paraffin eingebettet. Für Immunperoxidase-Färbungen wurden mit einem Rotationsmikrotom (Leica) Gewebeschnitte von 3 µm Schnittdicke
10 angefertigt, auf Objektträger (Superfrost, Vogel) aufgezogen und für 30 min bei 60°C im Brutschrank inkubiert.

Immunperoxidase-Färbung gegen GFP:

Die Schnitte wurden 3 x 5 min in Xylol deparaffiniert, in einer absteigenden Alkoholreihe (3 x 3 min 100% Ethanol, 2 x 2 min 95% Ethanol) rehydriert und danach 20 min in 3% H₂O₂/Methanol zum Blocken endogener Peroxidasen inkubiert. Alle Inkubationsschritte wurden im Folgenden in einer feuchten Kammer durchgeführt. Nach 3 x 3 min Waschen mit PBS wurde
20 mit dem 1. Antikörper (goat anti-GFP, sc-5384, Santa Cruz Biotechnology) 1:500 in 1% BSA/PBS über Nacht bei 4°C inkubiert. Die Inkubation mit dem biotinyliertem Sekundärantikörper (donkey anti-goat; Santa Cruz Biotechnology; 1:2000 Verdünnung) erfolgte für 30 min bei RT, danach wurde für 30 min
25 mit Avidin D Peroxidase (1:2000-Verdünnung, Vector Laboratories) inkubiert. Nach jeder Antikörperinkubation wurden die Schnitte 3 x 3 min in PBS gewaschen und Pufferreste mit Zellstoff von den Schnitten entfernt. Alle Antikörper wurden in 1% Rinderserumalbumin (BSA)/PBS verdünnt. Die Färbung mit
30 3,3'-Diaminobenzidin (DAB) wurde mit dem DAB Substrat Kit (Vector Laboratories) nach Herstellerangaben durchgeführt. Als nukleäre Gegenfärbung wurde Hämatoxylin III nach Gill (Merck) verwendet. Nach der Dehydrierung in einer aufsteigenden Alkoholreihe und 3 x 5 min Xylol wurden die Schnitte mit

Entellan (Merck) eingedeckt. Die mikroskopische Auswertung der Färbung erfolgte mit dem IX50 Mikroskop von Olympus, ausgestattet mit einer CCD-Camera (Hamamatsu).

5 Proteinisolierung aus Gewebestücken:

Zu den noch gefrorenen Gewebestücken wurden jeweils 800 µl Isolierungspuffer (50 mM HEPES, pH 7,5; 150 mM NaCl; 1 mM EDTA; 2,5 mM EGTA; 10% Glycerol; 0,1% Tween; 1 mM DTT; 10 mM β-Glycerol-Phosphat; 1 mM NaF; 0,1 mM Na₃VO₄ mit einer Pro-
10 tease-Inhibitor-Tablette „Complete“ von Roche) zugegeben und 2 x 30 Sekunden mit einem Ultraturrax (DIAX 900, Dispergierwerkzeug 6G, Heidolph) homogenisiert, dazwischen auf Eis abgekühlt. Nach 30 Minuten Inkubation auf Eis wurde gemischt und für 20 Minuten bei 10.000xg, 4°C, zentrifugiert (3K30,
15 Sigma). Der Überstand wurde erneut 10 Minuten auf Eis inkubiert, gemischt und 20 Minuten bei 15.000xg, 4°C, zentrifugiert. Mit dem Überstand wurde eine Proteinbestimmung nach Bradford, 1976, modifiziert nach Zor & Selinger, 1996, mit dem Roti-Nanoquant-System von Roth nach den Angaben des Her-
20 stellers durchgeführt. Für die Protein-Eichgerade wurde BSA (bovines Serumalbumin) in Konzentrationen von 10 bis 100 µg/ml eingesetzt.

SDS-Gelelektrophorese:

25 Die elektrophoretische Auftrennung der Proteine erfolgte in einer Multigel-Long Elektrophoresekammer von Biometra mit einer denaturierenden, diskontinuierlichen 15% SDS-PAGE (Polyacrylamid Gelelektrophorese) nach Lämmli (Nature 277: 680-685, 1970). Dazu wurde zunächst ein Trenngel mit 1,5 mm Dicke
30 gegossen: 7,5 ml Acrylamid/Bisacrylamid (30%, 0,9%), 3,8 ml 1,5 M Tris/HCl, pH 8,4, 150 µl 10% SDS, 3,3 ml Aqua bidest., 250 µl Ammoniumpersulfat (10%), 9 µl TEMED (N,N,N',N'-Tetramethylendiamin) und bis zum Auspolymerisieren mit 0,1%

SDS überschichtet. Danach wurde das Sammelgel gegossen: 0,83 μ l Acrylamid/Bisacrylamid (30%/0,9%), 630 μ l 1 M Tris/HCl, pH 6,8, 3,4 ml Aqua bidest., 50 μ l 10% SDS, 50 μ l 10% Ammoniumpersulfat, 5 μ l TEMED.

5

Vor dem Auftrag auf das Gel wurden die Proteine mit einer entsprechenden Menge an 4fach Probenpuffer (200 mM Tris, pH 6,8, 4% SDS, 100 mM DTT (Dithiotreithol), 0,02% Bromphenolblau, 20% Glycerin) versetzt, für 5 min im Heizblock bei 100°C denaturiert, nach dem Abkühlen auf Eis kurz abzentrifugiert und auf das Gel aufgetragen. Pro Bahn wurde die gleichen Plasma- bzw. Proteinmengen eingesetzt (je 3 μ l Plasma bzw. 25 μ g Gesamtprotein). Die Elektrophorese erfolgte wassergekühlt bei RT und konstant 50 V. Als Längenstandard wurde der Proteingelmarker von Bio-Rad (Kaleidoscope Prestained Standard) verwendet.

Western Blot und Immundetektion:

Der Transfer der Proteine vom SDS-PAGE auf eine PVDF (Polyvinylidendifluorid)-Membran (Hybond-P, Amersham) erfolgte im semidry Verfahren nach Kyhse-Anderson (J. Biochem. Biophys. Methods 10: 203-210, 1984) bei RT und einer konstanten Stromstärke von 0,8 mA/cm² für 1,5 h. Als Transferpuffer wurde ein Tris/Glycin-Puffer eingesetzt (39 mM Glycin, 46 mM Tris, 0,1 % SDS und 20% Methanol). Zum Überprüfen des elektrophoretischen Transfers wurden sowohl die Gele nach dem Blotten als auch die Blotmembranen nach der Immundetektion mit Coomassie gefärbt (0,1% Coomassie G250, 45% Methanol, 10% Eisessig). Zum Absättigen unspezifischer Bindungen wurde die Blotmembran nach dem Transfer in 1% Magermilchpulver/PBS für 1h bei RT inkubiert. Danach wurde je dreimal für 3 min mit 0,1% Tween-20/PBS gewaschen. Alle nachfolgenden Antikörperinkubationen und Waschschritte erfolgten in 0,1% Tween-20/ PBS. Die Inkubation mit dem Primärantikörper (goat anti-GFP, sc-5384, San-

ta Cruz Biotechnology) in einer Verdünnung von 1:1000 erfolgte für 1h bei RT. Danach wurde 3 x 5 min gewaschen und für 1h bei RT mit dem Sekundärantikörper (donkey anti-goat IgG Horseradish Peroxidase gelabelt, Santa Cruz Biotechnology) in einer Verdünnung von 1 : 10.000 inkubiert. Die Detektion erfolgte mit dem ECL-System von Amersham nach den Angaben des Herstellers.

In den Fig. 18 bis 20 ist die Inhibition der GFP-Expression nach intravenöser Injektion von spezifisch gegen GFP gerichteter dsRNA mit Immunperoxidase-Färbungen gegen GFP an 3 µm Paraffinschnitten dargestellt. Im Versuchsverlauf wurde gegen GFP gerichtete dsRNA mit einem doppelsträngigen Bereich von 22 Nukleotid-(nt)paaren ohne Überhänge an den 3'-Enden (D) und die entsprechende unspezifische Kontroll-dsRNA (B) sowie spezifisch gegen GFP gerichtete dsRNA mit einem 19 Nukleotidpaare umfassenden Doppelstrangbereich mit 2nt-Überhängen an den 3'-Enden (E) und die entsprechende unspezifische Kontroll-dsRNA (C) im 12 Stunden-Turnus über 5 Tage hinweg appliziert. (F) erhielt 1/50 der Dosis von Gruppe D. Als weitere Kontrolle wurden Tiere ohne dsRNA-Gabe (A) bzw. WT-Tiere untersucht. Die Fig. 18 zeigt die Inhibition der GFP-Expression in Nierenschnitten, Fig. 19 in Herz- und Fig. 20 in Pankreasgewebe. In den Fig. 21 bis 23 sind Western Blot-Analysen der GFP-Expression in Plasma und Geweben dargestellt. In der Fig. 21 ist die Inhibition der GFP-Expression im Plasma, in Fig. 22 in der Niere und in Fig. 23 in Herz gezeigt. In Fig. 23 sind Gesamtproteinisolate aus verschiedenen Tieren aufgetragen. Es wurden jeweils gleiche Gesamtproteinmengen pro Bahn aufgetragen. In den Tieren, denen unspezifische Kontroll-dsRNA verabreicht wurde (Tiere der Gruppen B und C), ist die GFP-Expression gegenüber Tieren, die keinerlei dsRNA erhielten, nicht reduziert. Tiere, die spezifisch gegen GFP gerichtete dsRNA mit 2nt-Überhängen an den 3'-Enden

beider Stränge und einen 19 Nukleotidpaare umfassenden Doppelstrangbereich erhielten, zeigten eine signifikant inhibierte GFP-Expression in den untersuchten Geweben (Herz, Niere, Pankreas und Blut), verglichen mit unbehandelten Tieren (Fig. 18 bis 23). Bei den Tieren der Gruppen D und F, denen spezifisch gegen GFP gerichtete dsRNA mit glatten Enden und einem 22 Nukleotidpaare umfassenden Doppelstrangbereich appliziert wurde, zeigten nur jene Tiere, die die dsRNA in einer Dosis von 50 µg/kg Körpergewicht pro Tag erhielten, eine spezifische Inhibition der GFP-Expression, die allerdings weniger deutlich ausgeprägt war als die der Tiere in Gruppe E.

Die zusammenfassende Auswertung von GFP-Inhibition in den Gewebeschnitten und im Western Blot ergibt, dass die Inhibition der GFP-Expression im Blut und in der Niere am stärksten ist (Fig. 18, 21 und 22).

V. Hemmung der Genexpression des EGF-Rezeptors mit dsRNA als therapeutischer Ansatz bei Krebsformen mit EGFR-Überexpression oder EGFR-induzierter Proliferation:

Der Epidermal Growth Factor (=EGF)-Rezeptor (=EGFR) gehört zu den Rezeptor-Tyrosinkinasen, transmembranen Proteinen mit einer intrinsischen Tyrosinkinase-Aktivität, die an der Kontrolle einer Reihe von zellulären Prozessen wie Zellwachstum, Zelldifferenzierungen, migratorischen Prozessen oder der Zellvitalität beteiligt sind (Übersicht in: Van der Geer et al. 1994). Die Familie der EGFR besteht aus 4 Mitgliedern, EGFR (ErbB1), HER2 (ErbB2), HER3 (ErbB3) und HER4 (ErbB4) mit einer transmembranen Domäne, einer cysteinreichen extrazellulären Domäne und einer intrazellulären katalytischen Domäne. Die Sequenz des EGFR, einem 170 kDa Protein, ist seit 1984 bekannt (Ullrich et al., 1984).

Aktiviert wird der EGFR durch Peptid-Wachstumsfaktoren wie EGF, TGF α (transforming growth factor), Amphiregulin, Beta-cellulin, HB-EGF (heparin-binding EGF-like growth factor) und Neureguline. Ligandenbindung induziert die Bildung von Homo-
5 oder Heterodimeren mit nachfolgender Autophosphorylierung zytoplasmatischer Tyrosine (Ullrich & Schlessinger, 1990; Alroy & Yarden, 1997). Die phosphorylierten Aminosäuren bilden die Bindungsstellen für eine Vielzahl von Proteinen, die an den proximalen Schritten der Signalweiterleitung in einem
10 komplexen Netzwerk beteiligt sind. Der EGFR ist an den verschiedensten Tumorerkrankungen beteiligt und damit ein geeignetes Target für therapeutische Ansätze (Huang & Harari, 1999). Die Mechanismen, die zu einer aberranten EGFR-Aktivierung führen, können auf Überexpression, Amplifikation,
15 konstitutiver Aktivierung mutanter Rezeptor-Formen oder autokrinen Loops beruhen (Voldborg et al., 1997). Eine Überexpression des EGFR wurde für eine Reihe von Tumoren beschrieben, wie z.B. Brustkrebs (Walker & Dearing, 1999), Nicht-Klein-Lungenkarzinom (Fontanini et al., 1998), Pankreaskarzi-
20 nomen, Kolonkarzinom (Salomon et al., 1995) und Glioblastomen (Rieske et al., 1998). Insbesondere für maligne Glioblastome sind bisher keine effizienten und spezifischen Therapeutika verfügbar.

25 Ausführungsbeispiel:

Zum Nachweis der Wirksamkeit der dsRNA bei der spezifischen Inhibition der EGFR-Genexpression wurden U-87 MG-Zellen (humane Glioblastomzellen), ECCAC (European collection of animal
30 cell culture) Nr. 89081402, verwendet, die mit spezifisch gegen den EGF-Rezeptor (Sequenzprotokoll SQ 51) gerichteten dsRNA transfiziert wurden. Nach ca. 72 Stunden Inkubation wurden die Zellen geerntet, Protein isoliert und im Western Blot Verfahren die EGFR-Expression untersucht.

Versuchsprotokoll:dsRNA-Synthese:

- 5 Mittels eines RNA-Synthesizers (Typ Expedite 8909, Applied Biosystems, Weiterstadt, Deutschland) und herkömmlicher chemischer Verfahren wurden die aus den Sequenzprotokollen ersichtlichen RNA-Einzelstränge und die zu ihnen komplementären Einzelstränge synthetisiert. Anschließend erfolgte die Reinigung der rohen Syntheseprodukte mit Hilfe der HPLC. Verwendet wurde die Säule NucleoPac PA-100, 9x250 mm, der Fa. Dionex; als Niedersalz-Puffer 20 mM Tris, 10 mM NaClO₄, pH 6,8, 10% Acetonitril und als Hochsalz-Puffer 20 mM Tris, 400 mM NaClO₄, pH 6,8, 10% Acetonitril. Der Fluß betrug 3 ml/Minute.
- 10
- 15 Die Hybridisierung der Einzelstränge zum Doppelstrang erfolgte durch Erhitzen des stöchiometrischen Gemischs der Einzelstränge in 10 mM Natriumphosphatpuffer, pH 6,8, 100 mM NaCl, auf 80-90°C und nachfolgendes langsames Abkühlen über 6 Stunden auf Raumtemperatur.

20

Aussaat der Zellen:

- Alle Zellkulturarbeiten wurden unter sterilen Bedingungen in einer entsprechenden Werkbank (HS18, Hera Safe, Kendro, Heraeus) durchgeführt. Die Kultivierung der U-87 MG-Zellen erfolgte im Brutschrank (CO₂-Inkubator T20, Hera cell, Kendro, Heraeus) bei 37°C, 5% CO₂ und gesättigter Luftfeuchtigkeit in DMEM (Dulbecco's modified eagle medium, Biochrom) mit 10% FCS (fetal calf serum, Biochrom), 2 mM L-Glutamin (Biochrom), 1 mM Natrium-Pyruvat (Biochrom), 1xNEAA (Non-essential Aminoacids, Biochrom) und Penicillin/Streptomycin (100 IE/100 µg/ml, Biochrom). Um die Zellen in der exponentiellen Wachstumsphase zu halten, wurden die Zellen alle 3 Tage passagiert. 24 Stunden vor der Applikation der dsRNA mittels Transfektion wurden die Zellen trypsiniert (10x Trypsin/EDTA,
- 25
- 30

Biochrom, Deutschland) und mit einer Zelldichte von 5×10^5 Zellen/Vertiefung in einer 6-Well-Platte (6-Well Schalen, Labor Schubert & Weiss GmbH) in 1,5 ml Wachstumsmedium ausgesät.

5

Applikation der dsRNA in kultivierte U-87 MG-Zellen:

Die Applikation der dsRNA erfolgte mittels Transfektion mit dem OLIGOFECTAMINE™ Reagent (Life Technologies) gemäß den Angaben des Herstellers. Das Gesamt-Transfektionsvolumen betrug
10 1 ml. Zuerst wurde die dsRNA in serumfreiem Medium verdünnt: Dazu wurden pro Well 0,5 µl einer 20 µM Stammlösung spezifisch gegen EGFR gerichteten dsRNA und 9,5 µl einer 20 µM Stammlösung unspezifischer dsRNA (K1A/K2B) mit 175 µl serumfreiem Medium verdünnt (200 nM dsRNA im Transfektionsansatz;
15 bzw. 10 nM spezifische EGFR-dsRNA). Das OLIGOFECTAMINE™ Reagent wurde ebenfalls in serumfreiem Medium verdünnt: pro Well 3 µl mit 12 µl Medium und danach 10 min bei Raumtemperatur inkubiert. Danach wurde das verdünnte OLIGOFECTAMINE™ Reagent zu den in Medium verdünnten dsRNAs gegeben, gemischt und für
20 weitere 20 min bei RT inkubiert. Während der Inkubation wurde ein Mediumwechsel durchgeführt. Die Zellen wurden dazu 1 x mit 1 ml serumfreiem Medium gewaschen und mit 800 µl serumfreiem Medium bis zur Zugabe von dsRNA/OLIGOFECTAMINE™ Reagent weiter im Brutschrank inkubiert. Nach der Zugabe von 200 µl
25 dsRNA/OLIGOFECTAMINE™ Reagent pro Well wurden die Zellen bis zur Proteinisolierung weiter im Brutschrank inkubiert.

Proteinisolierung:

Ca. 72 Stunden nach der Transfektion wurden die Zellen geerntet und eine Proteinisolierung durchgeführt. Dazu wurde das
30 Medium abgenommen und das Zellmonolayer 1 x mit PBS gewaschen. Nach Zugabe von 200 µl Proteinisolierungspuffer (1x Protease-Inhibitor „Complete“, Roche, 50 mM HEPES, pH 7,5,

150 mM NaCl, 1 mM EDTA, 2,5 mM EGTA, 10% Glyzerin, 0,1% Tween-20, 1 mM DTT, 10 mM β -Glycerinphosphat, 1 mM NaF, 0,1 mM Na_3VO_4) wurden die Zellen mit Hilfe eines Zellschabers abgelöst, 10 min auf Eis inkubiert, in ein Eppendorf-Reaktionsgefäß überführt und bei -80°C für mindestens 30 min gelagert. Nach dem Auftauen wurde das Lysat für 10 sec mit einem Dispergierer (DIAX 900, Dispergierwerkzeug 6G, Heidolph-Instruments GmbH & Co KG, Schwabach) auf Stufe 3 homogenisiert, für 10 min auf Eis inkubiert und für 15 min bei 14.000xg, 4°C (3K30, Sigma) zentrifugiert. Mit dem Überstand wurde eine Proteinbestimmung nach Bradford mit dem Roti®-Nanoquant-System von Roth (Roth GmbH & Co., Karlsruhe) nach Angaben des Herstellers durchgeführt. Dazu wurden je 200 μl Proteinlösung in geeigneter Verdünnung mit 800 μl 1x Arbeitslösung gemischt und die Extinktion in Halbmikroküvetten bei 450 und 590 nm gegen Aqua dest. in einem Beckman-Spektralphotometer (DU 250) gemessen. Für die Eichgerade wurden entsprechende BSA-Verdünnungen verwendet (perliertes BSA, Sigma).

20

SDS-Gelelektrophorese:

Die elektrophoretische Auftrennung der Proteine erfolgte in einer Multigel-Long Elektrophoresekammer von Biometra mit einer denaturierenden, diskontinuierlichen 7,5% SDS-PAGE (Polyacrylamid Gelelektrophorese) nach Lämmli (Nature 277: 680-685, 19970). Dazu wurde zunächst ein Trenngel mit 1,5 mm Dicke gegossen: 3,75 ml Acrylamid/Bisacrylamid (30%, 0,9%), 3,8 ml 1 M Tris/HCl, pH 8,4, 150 μl 10% SDS, 7,15 ml Aqua bidest., 150 μl Ammoniumpersulfat (10%), 9 μl TEMED (N,N,N',N'-Tetramethylethyldiamin) und bis zum Auspolymerisieren mit 0,1% SDS überschichtet. Danach wurde das Sammelgel gegossen: 0,83 ml Acrylamid/Bisacrylamid (30%/0,9%), 630 μl 1 M Tris/HCl, pH 6,8, 3,4 ml Aqua bidest., 50 μl 10% SDS, 50 μl 10% Ammoniumpersulfat, 5 μl TEMED.

Für den Auftrag auf das Gel wurden die Proteinproben 1:3 mit 4x Probenpuffer (200 mM Tris, pH 6,8, 4% SDS, 100 mM DTT (Dithiotreitol), 0,02% Bromphenolblau, 20% Glycerin) versetzt, für 5 min bei 100°C denaturiert, nach dem Abkühlen auf Eis kurz abzentrifugiert und auf das Gel aufgetragen. Pro Bahn wurden 35 µg Gesamtprotein aufgetragen. Der Gelauf erfolgte wassergekühlt bei RT und konstant 50 V. Als Längensstandard wurde der Kaleidoskop-Proteingelmarker (BioRad)) verwendet.

Western Blot und Immundetektion:

Der Transfer der Proteine vom SDS-PAGE auf eine PVDF (Polyvinylidendifluorid)-Membran (Hybond-P, Amersham) erfolgte im semidry Verfahren nach Kyhse-Anderson (J. Biochem. Biophys. Methods 10: 203-210, 1984) bei RT und einer konstanten Stromstärke von 0,5 mA/cm² für 1,5 h. Als Transferpuffer wurden verwendet: Kathodenpuffer (30 mM Tris, 40 mM Glycin, 10% Methanol, 0,01% SDS; pH 9,4), Anodenpuffer I (300 mM Tris, pH 10,4, 10% Methanol) und Anodenpuffer II (30 mM Tris, pH 10,4, 10% Methanol). Vor dem Zusammensetzen des Blotstapels mit 3MM Whatman-Papier (Schleicher & Schüll) wurden das Gel in Kathodenpuffer und die PVDF-Membran (zuvor 30 sec in 100% Methanol) in Anodenpuffer II inkubiert (5 min): 2 Lagen 3MM-Papier (Anodenpuffer I), 1 Lage 3MM-Papier (Anodenpuffer II), PVDF-Membran, Gel, 3 Lagen 3MM-Papier (Kathodenpuffer). Zum Überprüfen des elektrophoretischen Transfers wurden sowohl die Gele nach dem Blotten als auch die Blotmembranen nach der Immundetektion mit Coomassie gefärbt (0,1% Coomassie G250, 45% Methanol, 10% Eisessig).

Die Blotmembran wurde nach dem Transfer in 1% Magermilchpulver/PBS/0,1% Tween-20 für 1h bei RT inkubiert. Danach wurde dreimal für 3 min mit 0,1% Tween-20/PBS gewaschen. Alle nach-

folgenden Antikörperinkubationen und Waschschritte erfolgten in 0,1% Tween-20/ PBS. Die Inkubation mit dem Primärantikörper (human EGFR extracellular domain, specific goat IgG, Cat-Nr. AF231, R&D Systems) erfolgte auf einem Schüttler für 2h bei RT in einer Konzentration von 1,5 µg/ml. Danach wurde 3 x 5 min gewaschen und für 1h bei RT mit dem Sekundärantikörper (donkey anti-goat IgG Horseradish Peroxidase gelabelt, Santa Cruz Biotechnology) inkubiert (1:10.000 verdünnt). Nach dem Waschen (3 x 3min in PBS/0,1% Tween-20) erfolgte sofort die Detektion mittels ECL-Reaktion (enhanced chemiluminescence): Zu 18 ml Aqua dest. wurden 200 µl Lösung A (250 mM Luminol, Roth, gelöst in DMSO), 89 µl Lösung B (90 mM p-Coumarsäure, Sigma, gelöst in DMSO) und 2 ml 30% H₂O₂-Lösung pipettiert. Je nach Membrangröße wurden 4-6 ml direkt auf die Membran pipettiert, 1 min bei RT inkubiert und danach sofort ein Röntgenfilm (Biomax MS, Kodak) aufgelegt.

Die hier verwendeten Sequenzen sind in der nachstehenden Tabelle 3 sowie in den Sequenzprotokollen SQ153, 157, 158, 168-173 wiedergegeben.

ES-7	SQ168 SQ169	(A) 5'- AACACCGCAGCAUGUCAAGAU -3' (B) 3'- UUUUGUGGCGUCGUACAGUUC -5'	2-19-2
ES-8	SQ170 SQ171	(A) 5'- AAGUUAUUUUUCCCGUCGCUAU -3' (B) 3'- CAAUUUUUAAGGGCAGCGAUAGU -5'	2⁵-19-2⁵
ES2A/ ES5B	SQ172 SQ173	(A) 5'- AGUGUGAUCCAAGCUGUCCCAA -3' (B) 3'- UUUCACACUAGGUUCGACAGGGUU -5'	0-22-2
K2	SQ157 SQ158	(A) 5'- ACAGGAUGAGGAUCGUUUCGCAUG -3' (B) 3'- UCUGUCCUACUCCUAGCAAAGCGU -5'	2-22-2

K1A/ K2B	SQ153	(A)	5'- ACAGGAUGAGGAUCGUUUCGCA	-3'	0-22-2
	SQ158	(B)	3'- UCUGUCCUACUCCUAGCAAAGCGU	-5'	

Tabelle 3

Inhibition der EGFR-Expression in U-87 MG Glioblastom-Zellen:

5 24 Stunden nach dem Aussäen der Zellen wurden diese mit 10 nM dsRNA wie angegeben (Oligofectamine) transfiziert. Nach 72 Stunden wurden die Zellen geerntet und Protein isoliert. Die Auftrennung der Proteine erfolgte im 7,5% SDS-PAGE. Pro Bahn wurden je 35 µg Gesamtprotein aufgetragen. In Fig. 24 ist die

10 entsprechende Western Blot-Analyse gezeigt, aus der hervorgeht, dass sich mit der spezifisch gegen das EGFR-Gen gerichteten dsRNA mit einem 2nt-Überhang am 3'-Ende des Antisinn-Strangs die EGFR-Expression nach Transfektion in U-87 MG-Zellen signifikant gegenüber den entsprechenden Kontrollen

15 inhibieren lässt. Diese Inhibition der Expression eines endogenen Gens durch spezifische dsRNA bestätigt somit die in Ausführungsbeispiel II angeführten Ergebnisse zur Inhibition der Expression eines nach transienter Transfektion in die Zelle eingebrachten artifiziellen Gens. Die durch ES-7 bzw.

20 ES-8 vermittelte Inhibition der EGFR-Expression ist deutlich geringer. Die in Fig. 24 verwendeten dsRNAs sind Tabelle 3 zu entnehmen.

25 VI. Hemmung der Expression des Multidrug resistance Gens 1 (MDR1) :

Versuchsprotokoll:

Der *in vitro* Nachweis für das Blockieren der MDR1-Expression

30 wurde in der Kolonkarzinom-Zelllinie LS174T (ATCC - American Type Culture Collection; Tom et al., 1976) durchgeführt. Von

dieser Zelllinie ist bekannt, daß die Expression von MDR1 durch Zugabe von Rifampicin zum Kulturmedium induzierbar ist (Geick et al., 2001). Transfektionen wurden mit verschiedenen käuflichen Transfektions-Kits (Lipofectamine, Oligofectamine, 5 beide Invitrogen; TransMessenger, Qiagen) durchgeführt, wobei der TransMessenger Transfektions-Kit sich als für diese Zelllinie am geeignetsten herausstellte.

Zur Durchführung der RNA-Interferenz-Experimente wurden 4 10 kurze doppelsträngige Ribonukleinsäuren R1-R4 eingesetzt, deren Sequenzen in Tabelle 4) gezeigt sind. Die Ribonukleinsäuren sind mit Abschnitten der kodierenden Sequenz von MDR1 (Sequenzprotokoll SQ 30) homolog. Die Sequenzen R1 - R3 bestehen aus einem 22-mer Sinn- und einem 24-mer Antisinn-Strang, 15 wobei der entstehende Doppelstrang am 3'-Ende des Antisinn-Stranges einen 2-Nukleotid-Überhang aufweist (0-22-2). Die Sequenz R4 entspricht R1, jedoch besteht sie aus einem 19-mer Doppelstrang mit je 2-Nukleotid-Überhängen an jedem 3'-Ende (2-19-2).

20

<u>Name</u>	<u>Sequenz- proto- koll-Nr.</u>	<u>Sequenz</u>	<u>Position in Daten- bank-# AF016535</u>
Seq R1	SQ141 SQ142	5' - CCA UCU CGA AAA GAA GUU AAG A-3' 3' -UG GGU AGA GCU UUU CUU CAA UUC U-5'	1320-1342 1335-1318
Seq R2	SQ143 SQ152	5' - UAU AGG UUC CAG GCU UGC UGU A-3' 3' -CG AUA UCC AAG GUC CGA ACG ACA U-5'	2599-2621 2621-2597
Seq R3	SQ144 SQ145	5' - CCA GAG AAG GCC GCA CCU GCA U-3' 3' -UC GGU CUC UUC CGG CGU GGA CGU A-5'	3778-3799 3799-3776
Seq R4	SQ146 SQ147	5' - CCA UCU CGA AAA GAA GUU AAG-3' 3' -UG GGU AGA GCU UUU CUU CAA U -5'	1320-1341 1339-1318

			<u>Position in</u> <u>Daten-</u> <u>bank-#</u> <u>AF402779</u>
K1A/	SQ153	5' - ACA GGA UGA GGA UCG UUU CGC A-3'	2829-2808
K2B	SQ158	3' -UC UGU CCU ACU CCU AGC AAA GCG U-5'	2808-2831

Tabelle 4

Die in Tabelle 4 gezeigten Sequenzen sind nochmals im Sequenzprotokoll als Sequenzen SQ141-147, 152, 153, 158 wiedergegeben. Die dsRNAs wurden in einer Konzentration von 175 nM jeweils als doppelte Ansätze in die Zellen transfiziert, welche am Tag zuvor in 12-Loch-Platten à 3,8 x 10⁵ Zellen/Vertiefung ausgesät wurden. Dazu wurden pro Transfektionsansatz 93,3 µl EC-R-Puffer (TransMessenger Kit, Qiagen, Hilden) mit 3,2 µl Enhancer-R vermischt und danach 3,5 µl der jeweiligen 20 µM dsRNA zugegeben, gut gemischt und 5 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Nach Zugabe von jeweils 6 µl TransMessenger Transfection Reagent wurden die Transfektionsansätze 10 Sekunden kräftig gemischt und 10 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. In der Zwischenzeit wurde das Medium von den Zellen abgesaugt, einmal mit PBS (Phosphate buffered saline) gewaschen und 200 µl frisches Medium ohne FCS pro Vertiefung auf die Zellen gegeben. Nach Ablauf der 10-minütigen Inkubationszeit wurden je 100 µl FCS-freies Medium zu den Transfektionsansätzen pipettiert, gemischt, und die Mischung tropfenweise zu den Zellen pipettiert (die dsRNA-Konzentration von 175 µM bezieht sich auf 400 µl Medium Gesamtvolumen). Die dsRNA/Trans-Messenger-Komplexe wurden 4 Stunden bei 37°C mit den Zellen in FCS-freiem Medium inkubiert. Danach wurde ein Mediumwechsel durchgeführt, wobei das frische Medium 10 µM Rifampicin und 10% FCS enthielt. Als

Kontrolle wurde eine unspezifische dsRNA-Sequenz, die keinerlei Homologie mit der MDR1-Gensequenz aufweist, eingesetzt (K) und eine MOCK-Transfektion durchgeführt, die alle Reagenzien außer dsRNA enthielt.

5

Die Zellen wurden nach 24, 48 und 72 Stunden geerntet und die Gesamt-RNA mit dem RNeasy-Mini-Kit von Qiagen extrahiert. 10 µg Gesamt-RNA jeder Probe wurden auf einem 1%igen Agarose-Formaldehyd-Gel elektrophoretisch aufgetrennt, auf eine Nylon-Membran geblottet und mit 5'-α³²P-dCTP random-markierten, spezifischen Sonden zuerst gegen MDR1 und nach dem Strippen des Blots gegen GAPDH als interne Kontrolle hybridisiert und auf Röntgenfilmen exponiert.

15 Die Röntgenfilme wurden digitalisiert (Image Master, VDS Pharmacia) und mit der Image-Quant-Software quantifiziert. Dabei wurde ein Abgleich der MDR1-spezifischen Banden mit den entsprechenden GAPDH-Banden durchgeführt.

20 Ergebnisse:

Die Fig. 25 und 26 zeigen Northern-Blots (Fig. 25a, 26a) mit quantitativer Auswertung der MDR1-spezifischen Banden nach Abgleich mit den entsprechenden GAPDH-Werten (Fig. 25b, 26b). Es konnte eine Reduktion der MDR1-mRNA um bis zu 55 % im Vergleich zur MOCK-Transfektion und um bis zu 45 % im Vergleich zur unspezifischen Kontroll-Transfektion beobachtet werden. Nach 48 h ist eine signifikante Reduktion des MDR1-mRNA-Niveaus mit den als R1, R2, R3 (Tabelle 4) bezeichneten dsRNA-Konstrukten erreicht worden. Mit den R4-dsRNA-Konstrukten wurde nach 48 h keine signifikante Reduktion gegenüber den Kontrollen beobachtet (Fig. 26a und 26b). Nach 74 h war eine deutlich stärkere Reduktion des MDR1-mRNA-Levels mit R1, R2 und R3 gegenüber den Kontrollen im Vergleich zu den 48 h-Werten zu beobachten (Fig. 25a und 25b).

Mit R4 konnte zu diesem Zeitpunkt ebenfalls eine signifikante Verringerung des MDR1-mRNA-Niveaus erzielt werden. Somit reduzieren die Konstrukte mit einem 2nt-Überhang am 3'-Ende des Antisinnstrangs und einem doppelsträngigen Bereich aus 22 Nukleotidpaaren, relativ unabhängig von dem jeweiligen zum MDR1-Gen homologen Sequenzbereich (nach 48 h; Fig. 26b) das MDR1-mRNA-Level effizienter als die Konstrukte mit mit 2nt-Überhängen an den 3'-Enden beider Stränge (Antisinn- und Sinnstrang) und einem Doppelstrangbereich von 19 Nukleotidpaaren. Die Ergebnisse bekräftigen damit die in Ausführungsbeispiel IV beschriebene Inhibition der EGFR-Genexpression durch spezifische dsRNAs nach Transfektion in U-87 MG-Zellen.

Die Transfektionseffizienz wurde in einem getrennten Experiment mit Hilfe eines Texas-Red-markierten DNA-Oligonukleotids (TexRed-A(GATC)₅T; ebenfalls 175 nM transfiziert) ermittelt (Fig. 27a, 27b; 400fache Vergrößerung, 48h nach Transfektion). Sie betrug etwa 50% auf der Grundlage der rot fluoreszierenden Zellen im Vergleich zur Gesamtzellzahl. Berücksichtigt man die Transfektionsrate der Zellen von etwa 50%, so liegt die beobachtete Verringerung des MDR1-mRNA-Niveaus um ca. 45-55% liegt (verglichen mit den Kontrollen), den Schluss nahe, dass in allen Zellen, die mit spezifischer dsRNA erfolgreich transfiziert werden konnten, die MDR1-mRNA nahezu vollständig und spezifisch abgebaut wurde.

Literatur:

Alroy I & Yarden Y (1997): The Erb signalling network in embryogenesis and oncogenesis: signal diversification through
5 combinatorial ligand-receptor interactions. FEBS Letters 410: 83-86.

Bass,B.L., 2000. Double-stranded RNA as a template for gene
10 silencing. Cell 101, 235-238.

Bosher,J.M. and Labouesse,M., 2000. RNA interference: genetic
wand and genetic watchdog. Nature Cell Biology 2, E31-E36.

Bradford MM (1976): Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the
15 principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. 72: 248-254.

Caplen,N.J., Fleenor,J., Fire,A., and Morgan,R.A., 2000.
dsRNA-mediated gene silencing in cultured *Drosophila* cells: a
20 tissue culture model for the analysis of RNA interference.
Gene 252, 95-105.

Clemens,J.C., Worby,C.A., Simonson-Leff,N., Muda,M., Maelhama,T., Hemmings,B.A., and Dixon,J.E., 2000. Use of double-
25 stranded RNA interference in *Drosophila* cell lines to dissect
signal transduction pathways. Proc.Natl.Acad.Sci.USA 97,
6499-6503.

Cobleigh MA, Vogel CL, Tripathy D, Robert NJ, Scholl S, Fe-
30 hrenbacher L, Wolter JM, Paton V, Shak S, Liebermann G &
Slamon DJ (1999): Multinational study of the efficacy and
safety of humanized anti-HER2 monoclonal antibody in women
who have HER2-overexpressing metastatic breast cancer that

has progressed after chemotherapy for metastatic disease.
Journal of Clinical Oncology 17: 2639-2648.

5 Ding, S.W., 2000. RNA silencing. Curr. Opin. Biotechnol. 11,
152-156.

Fire, A., Xu, S., Montgomery, M.K., Kostas, S.A., Driver, S.E.,
and Mello, C.C., 1998. Potent and specific genetic interfer-
ence by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. Nature
10 391, 806-811.

Fire, A., 1999. RNA-triggered gene silencing. Trends Genet.
15, 358-363.

15 Freier, S.M., Kierzek, R., Jaeger, J.A., Sugimoto, N., Caruth-
ers, M.H., Neilson, T., and Turner, D.H., 1986. Improved free-
energy parameters for prediction of RNA duplex stability.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 83, 9373-9377 .

20 Geick, A., Eichelbaum, M., Burk, O. (2001). Nuclear receptor
response elements mediate induction of intestinal MDR1 by ri-
fampin. J. Biol. Chem. 276 (18), 14581-14587.

Fontanini G, De Laurentiis M, Vignati S, Chine S, Lucchi M,
25 Silvestri V, Mussi A, De Placido S, Tortora G, Bianco AR,
Gullick W, Angeletti CA, Bevilacqua G & Ciardiello F (1998):
Evaluation of epidermal growth factor-related growth factors
and receptors and of neoangiogenesis in completely resected
stage I-IIIa non-small-cell lung cancer: amphiregulin and mi-
30 crovessel count are independent prognostic factors of sur-
vival. Clinical Cancer Research 4: 241-249.

- Hammond, S.M., Bernstein, E., Beach, D., and Hannon, G.J., 2000. An RNA-directed nuclease mediates post-transcriptional gene silencing in *Drosophila* cells. *Nature* 404, 293-296.
- 5 Higgins, C.F. (1995). The ABC of channel regulation. *Cell*, 82, 693-696.
- Hadjantonakis AK, Gertsenstein M, Ikawa M, Okabe M & Nagy A (1993): Generating green fluorescent mice by germline transmission of green fluorescent ES cells. *Mech. Dev.* 76: 79-90.
- 10 Hadjantonakis AK, Gertsenstein M, Ikawa M, Okabe M & Nagy A (1998): Non-invasive sexing of preimplantation mammalian embryos. *Nature Genetics* 19: 220-222.
- 15 Kyhse-Anderson J (1984): Electrophoretic transfer of multiple gels: A simple apparatus without buffer tank for rapid transfer of proteins from polyacrylamide to nitrocellulose. *J. Biochem. Biophys. Methods* 10: 203-210.
- 20 Lämmli UK (1970): Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227: 680-685.
- 25 Loo, T.W., and Clarke, D.M. (1999) *Biochem. Cell Biol.* 77, 11-23.
- Huang SM & Harari PM (1999): Epidermal growth factor receptor inhibition in cancer therapy: biology, rationale and preliminary clinical results. *Investigational New Drugs* 17: 259-269.
- 30 Limmer, S., Hofmann, H.-P., Ott, G., and Sprinzl, M., 1993. The 3'-terminal end (NCCA) of tRNA determines the structure and

stability of the aminoacyl acceptor stem. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90 , 6199-6202.

5 Montgomery, M.K. and Fire, A., 1998. Double-stranded RNA as a mediator in sequence-specific genetic silencing and co-suppression. Trends Genet. 14, 255-258.

10 Montgomery, M.K., Xu, S., and Fire, A., 1998. RNA as a target of double-stranded RNA-mediated genetic interference in *Caenorhabditis elegans*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95, 15502-15507.

15 Rieske P, Kordek R, Bartkowiak J, Debiec-Rychter M, Bienhat W & Liberski PP (1998): A comparative study of epidermal growth factor (EGFR) and mdm2 gene amplification and protein immunoreactivity in human glioblastomas. Polish Journal of Pathology 49: 145-149.

20 Robert, J. (1999). Multidrug resistance in oncology: diagnostic and therapeutic approaches. Europ J Clin Invest 29, 536-545.

25 Stavrovskaya, A.A. (2000) Biochemistry (Moscow) 65 (1), 95-106.

Salomon DS, Brandt R, Ciardiello F & Normanno N (1995): Epidermal growth factor related peptides and their receptors in human malignancies: Critical Reviews in Oncology and Haematology 19: 183-232.

30 Tom, B.H., Rutzky, L.P., Jakstys, M.M., Oyasu, R., Kaye, C.I., Kahan, B.D. (1976), In vitro, 12, 180-191.

Tsuruo, T., Iida, H., Tsukagoshi, S., Sakurai, Y. (1981).
Overcoming of vincristine resistance in P388 leukemia in vivo
and in vitro through enhanced cytotoxicity of vincristine and
vinblastine by verapamil. *Cancer Res*, 41, 1967-72.

5

Ui-Tei, K., Zenno, S., Miyata, Y., and Saigo, K., 2000. Sensitive
assay of RNA interference in *Drosophila* and Chinese hamster
cultured cells using firefly luciferase gene as target. *FEBS
Lett.* 479, 79-82.

10

Ullrich A, Coussens L, Hayflick JS, Dull TJ, Gray A, Tam AW,
Lee J, Yarden Y, Liebermann TA, Schlessinger J et al. (1984):
Human epidermal growth factor receptor cDNA sequences and ab-
errant expression of the amplified gene in A431 epidermoid
15 carcinoma cells. *Nature* 309: 418-425.

Ullrich A & Schlessinger J (1990): Signal transduction by re-
ceptors with tyrosine kinase activity. *Cell* 61: 203-212.

20 Van der Geer P, Hunter T & Linberg RA (1994): Receptor pro-
tein-tyrosine kinases and their signal transduction pathways.
Annual review in Cell Biology 10: 251-337.

Voldborg BR, Damstrup L, Spang-Thopmsen M & Poulsen HS

25 (1997): Epidermal growth factor Receptor (EGFR) and EGFR mu-
tations, function and possible role in clinical trials. *Annu-
als of Oncology* 8: 1197-1206.

Walker RA & Dearing SJ (1999): Expression of epidermal growth
30 factor receptor mRNA and protein in primary breast carcino-
mas. *Breast Cancer Research Treatment* 53: 167-176.

Zamore, P.D., Tuschl, T., Sharp, P.A., and Bartel, D.P., 2000.
RNAi: double-stranded RNA directs the ATP-dependent cleavage
of mRNA at 21 to 23 nucleotide intervals. Cell 101 , 25-33.

- 5 Zor T & Selinger Z (1996): Linearization of the Bradford protein assay increases its sensitivity: theoretical and experimental studies. Anal. Biochem. 236: 302-308.

Patentansprüche

1. Verfahren zur Hemmung der Expression eines Zielgens in einer Zelle umfassend die folgenden Schritte:

5

Einführen mindestens einer doppelsträngigen Ribonukleinsäure (dsRNA I) in einer zur Hemmung der Expression des Zielgens ausreichenden Menge,

10 wobei die dsRNA I eine doppelsträngige aus höchstens 49 aufeinander folgenden Nukleotidpaaren gebildete Struktur aufweist, und wobei ein Strang (as1) oder zumindest ein Abschnitt des einen Strangs (as1) der doppelsträngigen Struktur komplementär zum Zielgen ist,

15

und wobei die dsRNA zumindest an einem Ende (E1, E2) der dsRNA I einen aus 1 bis 4 Nukleotiden gebildeten Überhang aufweist.

20 2. Verfahren nach Anspruch 1, wobei die dsRNA I den Überhang am 3'-Ende des einen Strangs (as1) und/oder am 3'-Ende des anderen Strangs (ss1) aufweist.

25 3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, wobei die dsRNA I an einem Ende (E1, E2) glatt ausgebildet ist.

4. Verfahren nach Anspruch 3, wobei das glatte Ende (E1, E2) das 5'-Ende des einen Strangs (as1) enthält.

30 5. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei der Überhang aus 1 bis 4 Nukleotiden, vorzugsweise 1 oder 2 Nukleotiden, gebildet ist.

6. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei
zumindest eine entsprechend der dsRNA I nach einem der vor-
hergehenden Ansprüche ausgebildete weitere doppelsträngige
Ribonukleinsäure (dsRNA II) in die Zelle eingeführt wird,
5 wobei der eine Strang (as1) oder zumindest ein Abschnitt des
einen Strangs (as1) der dsRNA I komplementär zu einem ersten
Bereich (B1) des Zielgens ist, und wobei ein weiterer Strang
(as2) oder zumindest ein Abschnitt des weiteren Strangs (as2)
der dsRNA II komplementär zu einem zweiten Bereich (B2) des
10 Zielgens ist.

7. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei
die dsRNA I und/oder die dsRNA II eine Länge von weniger als
25, vorzugsweis 19 bis 23, aufeinander folgenden Nukleo-
15 tidpaaren aufweist/en.

8. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei
der erste (B1) und der zweite Bereich (B2) abschnittsweise
überlappen oder aneinander grenzen.
20

9. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei
der erste (B1) und der zweite Bereich (B2) voneinander beab-
standet sind.

25 10. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei
das Zielgen eine der Sequenzen SQ001 bis SQ140 aufweist.

11. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei
das Zielgen aus der folgenden Gruppe ausgewählt ist: Onkogen,
30 Cytokin-Gen, Id-Protein-Gen, Priongen, Gene von Angiogenese
induzierenden Molekülen, von Adhäsions-Molekülen und von
Zelloberflächenrezeptoren, Gene von Proteinen, die an meta-
stasierenden und/oder invasiven Prozessen beteiligt sind, Ge-

ne von Proteinasen sowie Apoptose- und Zellzyklus-regulierenden Molekülen.

12. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei
5 das Zielgen das MDR1-Gens ist.

13. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei
als dsRNA I/II eine der Sequenzen SQ141 -173 bzw. ein aus
zwei jeweils zusammengehörenden Antisinn- (as1/2) und Sinnse-
10 quenzen (ss1/2) kombiniertes dsRNA-Konstrukt der Sequenzen
SQ141 - 173 verwendet wird.

14. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei
die Expression nach dem Prinzip der RNA-Interferenz gehemmt
15 wird.

15. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei
das Zielgen in pathogenen Organismen, vorzugsweise in Plasmo-
dien, exprimiert wird.
20

16. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei
das Zielgen Bestandteil eines Virus oder Viroids ist.

17. Verfahren nach Anspruch 16, wobei das Virus ein humanpa-
25 thogenes Virus oder Viroid ist.

18. Verfahren nach Anspruch 16, wobei das Virus oder Viroid
ein tier- oder pflanzenpathogenes Virus oder Viroid ist.

30 19. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei
ungepaarte Nukleotide durch Nukleosidthiophosphate substitu-
iert sind.

20. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei zumindest ein Ende (E1, E2) der dsRNA I/II modifiziert wird, um einem Abbau in der Zelle oder einer Dissoziation in die Einzelstränge entgegenzuwirken.

5

21. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei der durch die komplementären Nukleotidpaare bewirkte Zusammenhalt der doppelsträngigen Struktur durch mindestens eine chemische Verknüpfung erhöht wird.

10

22. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die chemische Verknüpfung durch eine kovalente oder ionische Bindung, eine Wasserstoffbrückenbindung, hydrophobe Wechselwirkungen, vorzugsweise van-der-Waals- oder Stapelungswechselwirkungen, oder durch Metall-Ionenkoordination gebildet wird.

15

23. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die chemische Verknüpfung in der Nähe des einen Endes (E1, E2) gebildet ist.

20

24. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die chemische Verknüpfung mittels einer oder mehrerer Verbindungsgruppen gebildet wird, wobei die Verbindungsgruppen vorzugsweise Poly-(oxyphosphinicoxy-1,3-propandiol)- und/oder Oligoethylenglycol-Ketten sind.

25

25. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die chemische Verknüpfung durch anstelle von Nukleotiden benutzte verzweigte Nukleotidanaloga gebildet wird.

30

26. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die chemische Verknüpfung durch Purinanaloga gebildet wird.

27. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die chemische Verknüpfung durch Azabenzoleinheiten gebildet wird.

5 28. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei zur Herstellung der chemischen Verknüpfung mindestens eine der folgenden Gruppen benutzt wird: Methylenblau; bifunktionelle Gruppen, vorzugsweise Bis-(2-chlorethyl)-amin; N-acetyl-N'-(p-glyoxyl-benzoyl)-cystamin; 4-Thiouracil; Psoralen.
10

29. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die chemische Verknüpfung durch in der Nähe der Enden (E1, E2) des doppelsträngigen Bereichs angebrachte Thiophosphoryl-
15 Gruppen gebildet wird.

30. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die chemische Verknüpfung durch in der Nähe der Enden (E1, E2) befindliche Tripelhelix-Bindungen hergestellt wird.
20

31. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die dsRNA I/II in micellare Strukturen, vorteilhafterweise in Liposomen, eingeschlossen wird.

25 32. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die dsRNA I/II an mindestens ein von einem Virus stammendes, davon abgeleitetes oder ein synthetisch hergestelltes virales Hüllprotein gebunden, damit assoziiert oder davon umgeben wird/werden.

30 33. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei das Hüllprotein vom Polyomavirus abgeleitet ist.

34. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei das Hüllprotein das Virus-Protein 1 (VP1) und/oder das Virus-Protein 2 (VP2) des Polyomavirus enthält.

5 35. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei bei Bildung eines Kapsids oder kapsidartigen Gebildes aus dem Hüllprotein die eine Seite zum Inneren des Kapsids oder kapsidartigen Gebildes gewandt ist.

10 36. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei der eine Strang (as1, as2) der dsRNA I/II zum primären oder prozessierten RNA-Transkript des Zielgens komplementär ist.

15 37. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Zelle eine Vertebratenzelle oder eine menschliche Zelle ist.

38. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die dsRNA I/II in einer Menge von höchstens 5 mg je Kilogramm
20 Körpergewicht pro Tag einem Säugetier, vorzugsweise einem Menschen, verabreicht wird.

39. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die dsRNA I/II zur Applikation in eine Pufferlösung aufgenommen
25 ist.

40. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die dsRNA I/II oral oder mittels Injektion oder Infusion intravenös, intratumoral, inhalativ, intraperitoneal verab-
30 reicht wird.

41. Verwendung einer die doppelsträngigen Ribonukleinsäure (dsRNA I) zur Hemmung der Expression eines Zielgens in einer Zelle,

wobei die dsRNA I eine doppelsträngige aus höchstens 49 aufeinander folgenden Nukleotidpaaren gebildete Struktur aufweist, und wobei ein Strang (as1) oder zumindest ein Abschnitt des einen Strangs (as1) der doppelsträngigen Struktur komplementär zum Zielgen ist,

und wobei die dsRNA I zumindest am einen Ende (E1, E2) einen aus 1 bis 4 Nukleotiden gebildeten Überhang aufweist.

10

42. Verwendung nach Anspruch 41, wobei die dsRNA I den Überhang am 3'-Ende des einen Strangs (as1) und/oder am 3'-Ende des anderen Strangs (ss1) aufweist.

15 43. Verwendung nach Anspruch 41 oder 42, wobei die dsRNA I an einem Ende (E1, E2) glatt ausgebildet ist.

44. Verwendung nach Anspruch 43, wobei das glatte Ende (E1, E2) das 5'-Ende des einen Strangs (as1) enthält.

20

45. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 44, wobei der Überhang aus 1 bis 4 Nukleotiden, vorzugsweise 1 oder 2 Nukleotiden, gebildet ist.

25 46. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 45, wobei zumindest eine weitere entsprechend der dsRNA I nach einem der Ansprüche 41 bis 45 ausgebildete doppelsträngige Ribonukleinsäure (dsRNA II) in die Zelle eingeführt wird, wobei der eine Strang (as1) oder zumindest ein Abschnitt des einen
30 Strangs (as1) der dsRNA I komplementär zu einem ersten Bereich (B1) des Sinn-Strangs des Zielgens ist, und wobei der weitere Strang (as2) oder zumindest ein Abschnitt des weiteren Strangs (as2) der dsRNA II komplementär zu einem zweiten Bereich (B2) des Zielgens ist.

47. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 47, wobei die dsRNA I und/oder die dsRNA II eine Länge von weniger als 25, vorzugsweise 19 bis 23, aufeinander folgenden Nukleotidpaaren aufweist/en.

48. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 47, wobei der erste (B1) und der zweite Bereich (B2) abschnittsweise überlappen oder aneinander grenzen.

49. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 48, wobei der erste (B1) und der zweite Bereich (B2) voneinander beabstandet sind.

50. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 49, wobei das Zielgen eine der Sequenzen SQ001 bis SQ140 aufweist.

51. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 50, wobei das Zielgen aus der folgenden Gruppe ausgewählt ist: Onkogen, Cytokin-Gen, Id-Protein-Gen, Priongen, Gene von Angiogenese induzierenden Molekülen, von Adhäsions-Molekülen und von Zelloberflächenrezeptoren, Gene von Proteinen, die an metastasierenden und/oder invasiven Prozessen beteiligt sind, Gene von Proteinasen sowie von Apoptose- und Zellzyklusregulierenden Molekülen.

52. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 51, wobei das Zielgen das MRD1-Gens ist.

53. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 52, wobei als dsRNA I/II eine der Sequenzen SQ141 -173 bzw. ein aus zwei jeweils zusammengehörenden Antisinn- (as1/2) und Sinnsequenzen (ss1/2) kombiniertes dsRNA-Konstrukt der Sequenzen SQ141 - 173 verwendet wird.

54. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 53, wobei die Expression nach dem Prinzip der RNA-Interferenz gehemmt wird.

5 55. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 54, wobei das Zielgen in pathogenen Organismen, vorzugsweise in Plasmodien, exprimiert wird.

56. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 55, wobei das
10 Zielgen Bestandteil eines Virus oder Viroids ist.

57. Verwendung nach Anspruch 56, wobei das Virus ein humanpathogenes Virus oder Viroid ist.

15 58. Verwendung nach Anspruch 56, wobei das Virus oder Viroid ein tier- oder pflanzenpathogenes Virus oder Viroid ist.

59. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 58, wobei ungepaarte Nukleotide durch Nukleosidthiophosphate substituiert
20 sind.

60. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 59, wobei zumindest ein Ende (E1, E2) der dsRNA modifiziert wird, um einem Abbau in der Zelle oder einer Dissoziation in die Einzelstränge entgegenzuwirken.
25

61. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 60, wobei der durch die komplementären Nukleotidpaare bewirkte Zusammenhalt der doppelsträngigen Struktur durch mindestens eine chemische
30 Verknüpfung erhöht wird.

62. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 61, wobei die chemische Verknüpfung durch eine kovalente oder ionische Bindung, eine Wasserstoffbrückenbindung, hydrophobe Wechselwir-

kungen, vorzugsweise van-der-Waals- oder Stapelungswechselwirkungen, oder durch Metall-Ionenkoordination gebildet wird.

63. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 62, wobei die
5 chemische Verknüpfung in der Nähe des einen Endes (E1, E2) gebildet ist.

64. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 63, wobei die
chemische Verknüpfung mittels einer oder mehrerer Verbin-
10 dungsgruppen gebildet wird, wobei die Verbindungsgruppen vor-
zugsweise Poly-(oxyphosphinicoxy-1,3-propandiol)- und/oder
Oligoethylenglycol-Ketten sind.

65. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 64, wobei die
15 chemische Verknüpfung durch anstelle von Nukleotiden benutzte
verzweigte Nukleotidanaloga gebildet wird.

66. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 65, wobei die
chemische Verknüpfung durch Purinanaloga gebildet wird.
20

67. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 66, wobei die
chemische Verknüpfung durch Azabenzoleinheiten gebildet wird.

68. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 67, wobei zur
25 Herstellung der chemischen Verknüpfung mindestens eine der
folgenden Gruppen benutzt wird: Methylenblau; bifunktionelle
Gruppen, vorzugsweise Bis-(2-chlorethyl)-amin; N-acetyl-N'-
(p-glyoxyl-benzoyl)-cystamin; 4-Thiouracil; Psoralen.

69. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 68, wobei die
30 chemische Verknüpfung durch in der Nähe der Enden (E1, E2)
des doppelsträngigen Bereichs angebrachte Thiophosphoryl-
Gruppen gebildet wird.

70. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 69, wobei die chemische Verknüpfung durch in der Nähe der Enden (E1, E2) befindliche Tripelhelix-Bindungen hergestellt wird.

5 71. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 70, wobei die dsRNA I/II in micellare Strukturen, vorteilhafterweise in Liposomen, eingeschlossen wird.

10 72. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 71, wobei die dsRNA I/II an mindestens ein von einem Virus stammendes, davon abgeleitetes oder ein synthetisch hergestelltes virales Hüllprotein gebunden, damit assoziiert oder davon umgeben wird/werden.

15 73. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 72, wobei das Hüllprotein vom Polyomavirus abgeleitet ist.

20 74. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 73, wobei das Hüllprotein das Virus-Protein 1 (VP1) und/oder das Virus-Protein 2 (VP2) des Polyomavirus enthält.

25 75. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 74, wobei bei Bildung eines Kapsids oder kapsidartigen Gebildes aus dem Hüllprotein die eine Seite zum Inneren des Kapsids oder kapsidartigen Gebildes gewandt ist.

76. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 75, wobei der eine Strang (as1, as2) der dsRNA I/II zum primären oder prozessierten RNA-Transkript des Zielgens komplementär ist.

30

77. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 76, wobei die Zelle eine Vertebratenzelle oder eine menschliche Zelle ist.

78. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 77, wobei die dsRNA I/II in einer Menge von höchstens 5 mg je Kilogramm Körpergewicht pro Tag einem Säugetier, vorzugsweise einem Menschen, verabreicht wird.

5

79. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 78, wobei die dsRNA I/II zur Applikation in eine Pufferlösung aufgenommen ist.

10 80. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 79, wobei die dsRNA I/II oral oder mittels Injektion oder Infusion intravenös, intratumoral, inhalativ, intraperitoneal verabreicht wird.

15 81. Medikament zur Hemmung der Expression eines Zielgens in einer Zelle enthaltend eine doppelsträngige Ribonukleinsäure (dsRNA I) in einer zur Hemmung der Expression des Zielgens ausreichenden Menge,

20 wobei die dsRNA I eine doppelsträngige aus höchstens 49 aufeinander folgenden Nukleotidpaaren gebildete Struktur aufweist,

und wobei ein Strang (as1) oder zumindest ein Abschnitt des
25 einen Strangs (as1) der doppelsträngigen Struktur komplementär zum Zielgen ist,

und wobei die dsRNA I zumindest am einen Ende (E1, E2) einen aus 1 bis 4 Nukleotiden gebildeten Überhang aufweist.

30

82. Medikament nach Anspruch 81, wobei die dsRNA I den Überhang am 3'-Ende des einen Strangs (as1) und/oder am 3'-Ende des anderen Strangs (ss1) aufweist.

83. Medikament nach Anspruch 81 oder 82, wobei die dsRNA I an einem Ende (E1, E2) glatt ausgebildet ist.

84. Medikament nach Anspruch 83, wobei das glatte Ende (E1, E2) das 5'-Ende des einen Strangs (as1) enthält.

85. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 84, wobei der Überhang aus 1 bis 4 Nukleotiden, vorzugsweise 1 oder 2 Nukleotiden, gebildet ist.

10

86. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 85, enthaltend zumindest eine weitere entsprechend der dsRNA I nach einem der Ansprüche 81 bis 85 ausgebildete doppelsträngige Ribonukleinsäure (dsRNA II), wobei der eine Strang (as1) oder zumindest ein Abschnitt des einen Strangs (as1) der dsRNA I komplementär zu einem ersten Bereich (B1) des Zielgens ist, und wobei der weitere Strang (as2) oder zumindest ein Abschnitt des weiteren Strangs (as2) der dsRNA II komplementär zu einem zweiten Bereich (B2) des Zielgens ist.

20

87. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 86, wobei die dsRNA I und/oder die dsRNA II eine Länge von weniger als 25, vorzugsweise 19 bis 23, aufeinander folgenden Nukleotidpaaren aufweist/en.

25

88. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 87, wobei der erste (B1) und der zweite Bereich (B2) abschnittsweise überlappen oder aneinander grenzen.

89. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 88, wobei das Zielgen eine der Sequenzen SQ001 bis SQ140 aufweist.

90. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 89, wobei das Zielgen aus der folgenden Gruppe ausgewählt ist: Onkogen,

Cytokin-Gen, Id-Protein-Gen, Prionen, Gene von Angiogenese induzierenden Molekülen, von Adhäsions-Molekülen und von Zelloberflächenrezeptoren, Gene von Proteinen, die an metastasierenden und/oder invasiven Prozessen beteiligt sind, Gene von Proteinasen sowie von Apoptose- und Zellzyklusregulierende Molekülen.

91. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 90, wobei das Zielgen das MRD1-Gen ist.

10

92. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 91, wobei als dsRNA eine der Sequenzen SQ141 -173 bzw. ein aus zwei jeweils zusammengehörenden Antisinn- (as1/2) und Sinnsequenzen (ss1/2) kombiniertes dsRNA-Konstrukt der Sequenzen SQ141 -

15 173 verwendet wird.

93. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 92, wobei die Expression nach dem Prinzip der RNA-Interferenz gehemmt wird.

20 94. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 93, wobei das Zielgen in pathogenen Organismen, vorzugsweise in Plasmodien, exprimierbar ist.

25 95. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 94, wobei das Zielgen Bestandteil eines Virus oder Viroids ist.

96. Medikament nach Anspruch 95, wobei das Virus ein humanpathogenes Virus oder Viroid ist.

30 97. Medikament nach Anspruch 95, wobei das Virus oder Viroid ein tier- oder pflanzenpathogenes Virus oder Viroid ist.

98. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 97, wobei ungepaarte Nukleotide durch Nukleosidthiophosphate substituiert sind.
- 5 99. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 98, wobei zumindest ein Ende (E1, E2) der dsRNA modifiziert ist, um einem Abbau in der Zelle oder einer Dissoziation in die Einzelstränge entgegenzuwirken.
- 10 100. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 99, wobei der durch die komplementären Nukleotidpaare bewirkte Zusammenhalt der doppelsträngigen Struktur durch mindestens eine chemische Verknüpfung erhöht ist.
- 15 101. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 100, wobei die chemische Verknüpfung durch eine kovalente oder ionische Bindung, eine Wasserstoffbrückenbindung, hydrophobe Wechselwirkungen, vorzugsweise van-der-Waals- oder Stapelungswechselwirkungen, oder durch Metall-Ionenkoordination gebildet
- 20 ist.
102. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 101, wobei die chemische Verknüpfung in der Nähe des einen Endes (E1, E2) gebildet ist.
- 25 103. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 102, wobei die chemische Verknüpfung mittels einer oder mehrerer Verbindungsgruppen gebildet wird, wobei die Verbindungsgruppen vorzugsweise Poly-(oxyphosphinicooxy-1,3-propandiol)- und/oder
- 30 Oligoethylenglycol-Ketten sind.
104. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 103, wobei die chemische Verknüpfung durch anstelle von Nukleotiden benutzte verzweigte Nukleotidanaloga gebildet ist.

105. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 104, wobei die chemische Verknüpfung durch Purinanaloga gebildet ist.

- 5 106. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 105, wobei die chemische Verknüpfung durch Azabenzoleinheiten gebildet ist.

107. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 106, wobei
10 zur Herstellung der chemischen Verknüpfung mindestens eine der folgenden Gruppen benutzt wird: Methylenblau; bifunktionelle Gruppen, vorzugsweise Bis-(2-chlorethyl)-amin; N-acetyl-N'-(p-glyoxyl-benzoyl)-cystamin; 4-Thiouracil; Psoralen.

15 108. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 107, wobei die chemische Verknüpfung durch in der Nähe der Enden (E1, E2) des doppelsträngigen Bereichs angebrachte Thiophosphoryl-Gruppen gebildet ist.

20 109. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 108, wobei die chemische Verknüpfung durch in der Nähe der Enden (E1, E2) befindliche Tripelhelix-Bindungen hergestellt ist.

25 110. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 109, wobei die dsRNA I/II in micellare Strukturen, vorteilhafterweise in Liposomen, eingeschlossen ist.

30 111. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 110, wobei die dsRNA I an mindestens ein von einem Virus stammendes, davon abgeleitetes oder ein synthetisch hergestelltes virales Hüllprotein gebunden, damit assoziiert oder davon umgeben ist/sind.

112. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 111, wobei das Hüllprotein vom Polyomavirus abgeleitet ist.

113. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 112, wobei
5 das Hüllprotein das Virus-Protein 1 (VP1) und/oder das Virus-Protein 2 (VP2) des Polyomavirus enthält.

114. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 113, wobei
bei Bildung eines Kapsids oder kapsidartigen Gebildes aus dem
10 Hüllprotein die eine Seite zum Inneren des Kapsids oder kapsidartigen Gebildes gewandt ist.

115. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 114, wobei
der eine Strang (as1, as2) der dsRNA I zum primären oder pro-
15 zessierten RNA-Transkript des Zielgens komplementär ist.

116. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 115, wobei
die Zelle eine Vertebratenzelle oder eine menschliche Zelle
ist.

20

117. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 116, wobei
der erste (B1) und der zweite Bereich (B2) voneinander beab-
standet sind.

25 118. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 117, wobei
die dsRNA in einer Menge von höchstens 5 mg pro Verabrei-
chungseinheit enthalten ist.

119. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 118, wobei
30 die dsRNA in eine Pufferlösung aufgenommen ist.

120. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 119, wobei
die dsRNA oral oder mittels Injektion oder Infusion intrave-
nös, intratumoral, inhalativ, intraperitoneal verabreichbar
ist.

121. Verfahren zur Hemmung der Expression eines Zielgens in einer Zelle umfassend die folgenden Schritte:

5

Einführen mindestens einer doppelsträngigen Ribonukleinsäure (dsRNA I) in einer zur Hemmung der Expression des Zielgens ausreichenden Menge,

10 wobei die dsRNA I eine doppelsträngige aus höchstens 49 aufeinander folgenden Nukleotidpaaren gebildete Struktur aufweist, und wobei ein Strang (as1) oder zumindest ein Abschnitt des einen Strangs (as1) der doppelsträngigen Struktur komplementär zum Zielgen ist,

15

und wobei die dsRNA zumindest an einem Ende (E1, E2) der dsRNA I einen aus 1 bis 4 Nukleotiden gebildeten Überhang aufweist.

20 122. Verfahren nach Anspruch 1, wobei die dsRNA I den Überhang am 3'-Ende des einen Strangs (as1) und/oder am 3'-Ende des anderen Strangs (ss1) aufweist.

123. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, wobei die dsRNA I an
25 einem Ende (E1, E2) glatt ausgebildet ist.

124. Verfahren nach Anspruch 3, wobei das glatte Ende (E1, E2) das 5'-Ende des einen Strangs (as1) enthält.

30 125. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei der Überhang aus 1 bis 4 Nukleotiden, vorzugsweise 1 oder 2 Nukleotiden, gebildet ist.

126. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei
zumindest eine entsprechend der dsRNA I nach einem der vor-
hergehenden Ansprüche ausgebildete weitere doppelsträngige
Ribonukleinsäure (dsRNA II) in die Zelle eingeführt wird,
5 wobei der eine Strang (as1) oder zumindest ein Abschnitt des
einen Strangs (as1) der dsRNA I komplementär zu einem ersten
Bereich (B1) des Zielgens ist, und wobei ein weiterer Strang
(as2) oder zumindest ein Abschnitt des weiteren Strangs (as2)
der dsRNA II komplementär zu einem zweiten Bereich (B2) des
10 Zielgens ist.

127. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei
die dsRNA I und/oder die dsRNA II eine Länge von weniger als
25, vorzugsweis 19 bis 23, aufeinander folgenden Nukleo-
15 tidpaaren aufweist/en.

128. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei
der erste (B1) und der zweite Bereich (B2) abschnittsweise
überlappen oder aneinander grenzen.
20

129. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei
der erste (B1) und der zweite Bereich (B2) voneinander beab-
standet sind.

25 130. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei
das Zielgen eine der Sequenzen SQ001 bis SQ140 aufweist.

131. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei
das Zielgen aus der folgenden Gruppe ausgewählt ist: Onkogen,
30 Cytokin-Gen, Id-Protein-Gen, Prionen, Gene von Angiogenese
induzierenden Molekülen, von Adhäsions-Molekülen und von
Zelloberflächenrezeptoren, Gene von Proteinen, die an meta-
stasierenden und/oder invasiven Prozessen beteiligt sind, Ge-

ne von Proteinase- sowie Apoptose- und Zellzyklus-regulierenden Molekülen.

132. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei
5 das Zielgen das MDR1-Gen ist.

133. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei
als dsRNA I/II eine der Sequenzen SQ141 -173 bzw. ein aus
zwei jeweils zusammengehörenden Antisinn- (as1/2) und Sinnse-
10 quenzen (ss1/2) kombiniertes dsRNA-Konstrukt der Sequenzen
SQ141 - 173 verwendet wird.

134. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei
die Expression nach dem Prinzip der RNA-Interferenz gehemmt
15 wird.

135. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei
das Zielgen in pathogenen Organismen, vorzugsweise in Plasmo-
dien, exprimiert wird.

20

136. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei
das Zielgen Bestandteil eines Virus oder Viroids ist.

137. Verfahren nach Anspruch 16, wobei das Virus ein humanpa-
25 thogenes Virus oder Viroid ist.

138. Verfahren nach Anspruch 16, wobei das Virus oder Viroid
ein tier- oder pflanzenpathogenes Virus oder Viroid ist.

30 139. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei
ungepaarte Nukleotide durch Nukleosidthiophosphate substitu-
iert sind.

140. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei zumindest ein Ende (E1, E2) der dsRNA I/II modifiziert wird, um einem Abbau in der Zelle oder einer Dissoziation in die Einzelstränge entgegenzuwirken.

5

141. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei der durch die komplementären Nukleotidpaare bewirkte Zusammenhalt der doppelsträngigen Struktur durch mindestens eine chemische Verknüpfung erhöht wird.

10

142. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die chemische Verknüpfung durch eine kovalente oder ionische Bindung, eine Wasserstoffbrückenbindung, hydrophobe Wechselwirkungen, vorzugsweise van-der-Waals- oder Stapelungswechselwirkungen, oder durch Metall-Ionenkoordination gebildet wird.

15

143. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die chemische Verknüpfung in der Nähe des einen Endes (E1, E2) gebildet ist.

20

144. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die chemische Verknüpfung mittels einer oder mehrerer Verbindungsgruppen gebildet wird, wobei die Verbindungsgruppen vorzugsweise Poly-(oxyphosphinicooxy-1,3-propandiol)- und/oder Oligoethylenglycol-Ketten sind.

25

145. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die chemische Verknüpfung durch anstelle von Nukleotiden benutzte verzweigte Nukleotidanaloga gebildet wird.

30

146. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die chemische Verknüpfung durch Purinanaloga gebildet wird.

147. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die chemische Verknüpfung durch Azabenzoleinheiten gebildet wird.

5 148. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei zur Herstellung der chemischen Verknüpfung mindestens eine der folgenden Gruppen benutzt wird: Methylenblau; bifunktionelle Gruppen, vorzugsweise Bis-(2-chlorethyl)-amin; N-acetyl-N'-(p-glyoxyl-benzoyl)-cystamin; 4-Thiouracil; Psora-
10 len.

149. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die chemische Verknüpfung durch in der Nähe der Enden (E1, E2) des doppelsträngigen Bereichs angebrachte Thiophosphoryl-
15 Gruppen gebildet wird.

150. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die chemische Verknüpfung durch in der Nähe der Enden (E1, E2) befindliche Tripelhelix-Bindungen hergestellt wird.
20

151. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die dsRNA I/II in micellare Strukturen, vorteilhafterweise in Liposomen, eingeschlossen wird.

25 152. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die dsRNA I/II an mindestens ein von einem Virus stammendes, davon abgeleitetes oder ein synthetisch hergestelltes virales Hüllprotein gebunden, damit assoziiert oder davon umgeben wird/werden.

30 153. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei das Hüllprotein vom Polyomavirus abgeleitet ist.

154. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei das Hüllprotein das Virus-Protein 1 (VP1) und/oder das Virus-Protein 2 (VP2) des Polyomavirus enthält.
- 5 155. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei bei Bildung eines Kapsids oder kapsidartigen Gebildes aus dem Hüllprotein die eine Seite zum Inneren des Kapsids oder kapsidartigen Gebildes gewandt ist.
- 10 156. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei der eine Strang (as1, as2) der dsRNA I/II zum primären oder prozessierten RNA-Transkript des Zielgens komplementär ist.
- 15 157. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Zelle eine Vertebratenzelle oder eine menschliche Zelle ist.
158. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die dsRNA I/II in einer Menge von höchstens 5 mg je Kilogramm
- 20 Körpergewicht pro Tag einem Säugetier, vorzugsweise einem Menschen, verabreicht wird.
159. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die dsRNA I/II zur Applikation in eine Pufferlösung aufgenommen
- 25 men ist.
160. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die dsRNA I/II oral oder mittels Injektion oder Infusion intravenös, intratumoral, inhalativ, intraperitoneal verab-
- 30 reicht wird.
161. Verwendung einer die doppelsträngigen Ribonukleinsäure (dsRNA I) zur Hemmung der Expression eines Zielgens in einer Zelle,

wobei die dsRNA I eine doppelsträngige aus höchstens 49 aufeinander folgenden Nukleotidpaaren gebildete Struktur aufweist, und wobei ein Strang (as1) oder zumindest ein Abschnitt des einen Strangs (as1) der doppelsträngigen Struktur komplementär zum Zielgen ist,

und wobei die dsRNA I zumindest am einen Ende (E1, E2) einen aus 1 bis 4 Nukleotiden gebildeten Überhang aufweist.

10

162. Verwendung nach Anspruch 41, wobei die dsRNA I den Überhang am 3'-Ende des einen Strangs (as1) und/oder am 3'-Ende des anderen Strangs (ss1) aufweist.

15 163. Verwendung nach Anspruch 41 oder 42, wobei die dsRNA I an einem Ende (E1, E2) glatt ausgebildet ist.

164. Verwendung nach Anspruch 43, wobei das glatte Ende (E1, E2) das 5'-Ende des einen Strangs (as1) enthält.

20

165. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 44, wobei der Überhang aus 1 bis 4 Nukleotiden, vorzugsweise 1 oder 2 Nukleotiden, gebildet ist.

25 166. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 45, wobei zumindest eine weitere entsprechend der dsRNA I nach einem der Ansprüche 41 bis 45 ausgebildete doppelsträngige Ribonukleinsäure (dsRNA II) in die Zelle eingeführt wird, wobei der eine Strang (as1) oder zumindest ein Abschnitt des einen
30 Strangs (as1) der dsRNA I komplementär zu einem ersten Bereich (B1) des Sinn-Strangs des Zielgens ist, und wobei der weitere Strang (as2) oder zumindest ein Abschnitt des weiteren Strangs (as2) der dsRNA II komplementär zu einem zweiten Bereich (B2) des Zielgens ist.

167. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 47, wobei die dsRNA I und/oder die dsRNA II eine Länge von weniger als 25, vorzugsweise 19 bis 23, aufeinander folgenden Nukleotidpaaren aufweist/en.

168. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 47, wobei der erste (B1) und der zweite Bereich (B2) abschnittsweise überlappen oder aneinander grenzen.

169. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 48, wobei der erste (B1) und der zweite Bereich (B2) voneinander beabstandet sind.

170. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 49, wobei das Zielgen eine der Sequenzen SQ001 bis SQ140 aufweist.

171. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 50, wobei das Zielgen aus der folgenden Gruppe ausgewählt ist: Onkogen, Cytokin-Gen, Id-Protein-Gen, Priongen, Gene von Angiogenese induzierenden Molekülen, von Adhäsions-Molekülen und von Zelloberflächenrezeptoren, Gene von Proteinen, die an metastasierenden und/oder invasiven Prozessen beteiligt sind, Gene von Proteinasen sowie von Apoptose- und Zellzyklusregulierenden Molekülen.

172. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 51, wobei das Zielgen das MRD1-Gens ist.

173. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 52, wobei als dsRNA I/II eine der Sequenzen SQ141 -173 bzw. ein aus zwei jeweils zusammengehörenden Antisinn- (as1/2) und Sinnsequenzen (ss1/2) kombiniertes dsRNA-Konstrukt der Sequenzen SQ141 - 173 verwendet wird.

174. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 53, wobei die Expression nach dem Prinzip der RNA-Interferenz gehemmt wird.

5 175. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 54, wobei das Zielgen in pathogenen Organismen, vorzugsweise in Plasmodien, exprimiert wird.

176. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 55, wobei das
10 Zielgen Bestandteil eines Virus oder Viroids ist.

177. Verwendung nach Anspruch 56, wobei das Virus ein humanpathogenes Virus oder Viroid ist.

15 178. Verwendung nach Anspruch 56, wobei das Virus oder Viroid ein tier- oder pflanzenpathogenes Virus oder Viroid ist.

179. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 58, wobei ungepaarte Nukleotide durch Nukleosidthiophosphate substituiert
20 sind.

180. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 59, wobei zumindest ein Ende (E1, E2) der dsRNA modifiziert wird, um einem Abbau in der Zelle oder einer Dissoziation in die Einzelstränge entgegenzuwirken.
25

181. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 60, wobei der durch die komplementären Nukleotidpaare bewirkte Zusammenhalt der doppelsträngigen Struktur durch mindestens eine chemische
30 Verknüpfung erhöht wird.

182. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 61, wobei die chemische Verknüpfung durch eine kovalente oder ionische Bindung, eine Wasserstoffbrückenbindung, hydrophobe Wechselwir-

kungen, vorzugsweise van-der-Waals- oder Stapelungswechselwirkungen, oder durch Metall-Ionenkoordination gebildet wird.

183. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 62, wobei die
5 chemische Verknüpfung in der Nähe des einen Endes (E1, E2) gebildet ist.

184. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 63, wobei die
chemische Verknüpfung mittels einer oder mehrerer Verbindungsgruppen gebildet wird, wobei die Verbindungsgruppen vorzugsweise Poly-(oxyphosphinicooxy-1,3-propandiol)- und/oder
10 Oligoethylenglycol-Ketten sind.

185. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 64, wobei die
15 chemische Verknüpfung durch anstelle von Nukleotiden benutzte verzweigte Nukleotidanaloga gebildet wird.

186. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 65, wobei die
chemische Verknüpfung durch Purinanaloga gebildet wird.

20

187. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 66, wobei die
chemische Verknüpfung durch Azabenzoleinheiten gebildet wird.

188. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 67, wobei zur
25 Herstellung der chemischen Verknüpfung mindestens eine der folgenden Gruppen benutzt wird: Methylenblau; bifunktionelle Gruppen, vorzugsweise Bis-(2-chlorethyl)-amin; N-acetyl-N'-(p-glyoxyl-benzoyl)-cystamin; 4-Thiouracil; Psoralen.

30 189. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 68, wobei die chemische Verknüpfung durch in der Nähe der Enden (E1, E2) des doppelsträngigen Bereichs angebrachte Thiophosphoryl-Gruppen gebildet wird.

190. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 69, wobei die chemische Verknüpfung durch in der Nähe der Enden (E1, E2) befindliche Tripelhelix-Bindungen hergestellt wird.
- 5 191. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 70, wobei die dsRNA I/II in micellare Strukturen, vorteilhafterweise in Liposomen, eingeschlossen wird.
192. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 71, wobei die
10 dsRNA I/II an mindestens ein von einem Virus stammendes, davon abgeleitetes oder ein synthetisch hergestelltes virales Hüllprotein gebunden, damit assoziiert oder davon umgeben wird/werden.
- 15 193. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 72, wobei das Hüllprotein vom Polyomavirus abgeleitet ist.
194. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 73, wobei das Hüllprotein das Virus-Protein 1 (VP1) und/oder das Virus-
20 Protein 2 (VP2) des Polyomavirus enthält.
195. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 74, wobei bei Bildung eines Kapsids oder kapsidartigen Gebildes aus dem Hüllprotein die eine Seite zum Inneren des Kapsids oder kapsidartigen Gebildes gewandt ist.
25
196. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 75, wobei der eine Strang (as1, as2) der dsRNA I/II zum primären oder prozessierten RNA-Transkript des Zielgens komplementär ist.
30
197. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 76, wobei die Zelle eine Vertebratenzelle oder eine menschliche Zelle ist.

198. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 77, wobei die dsRNA I/II in einer Menge von höchstens 5 mg je Kilogramm Körpergewicht pro Tag einem Säugetier, vorzugsweise einem Menschen, verabreicht wird.

5

199. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 78, wobei die dsRNA I/II zur Applikation in eine Pufferlösung aufgenommen ist.

10 200. Verwendung nach einem der Ansprüche 41 bis 79, wobei die dsRNA I/II oral oder mittels Injektion oder Infusion intravenös, intratumoral, inhalativ, intraperitoneal verabreicht wird.

15 201. Medikament zur Hemmung der Expression eines Zielgens in einer Zelle enthaltend eine doppelsträngige Ribonukleinsäure (dsRNA I) in einer zur Hemmung der Expression des Zielgens ausreichenden Menge,

20 wobei die dsRNA I eine doppelsträngige aus höchstens 49 aufeinander folgenden Nukleotidpaaren gebildete Struktur aufweist,

und wobei ein Strang (as1) oder zumindest ein Abschnitt des
25 einen Strangs (as1) der doppelsträngigen Struktur komplementär zum Zielgen ist,

und wobei die dsRNA I zumindest am einen Ende (E1, E2) einen aus 1 bis 4 Nukleotiden gebildeten Überhang aufweist.

30

202. Medikament nach Anspruch 81, wobei die dsRNA I den Überhang am 3'-Ende des einen Strangs (as1) und/oder am 3'-Ende des anderen Strangs (ss1) aufweist.

203. Medikament nach Anspruch 81 oder 82, wobei die dsRNA I an einem Ende (E1, E2) glatt ausgebildet ist.

5 204. Medikament nach Anspruch 83, wobei das glatte Ende (E1, E2) das 5'-Ende des einen Strangs (as1) enthält.

205. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 84, wobei der Überhang aus 1 bis 4 Nukleotiden, vorzugsweise 1 oder 2 Nukleotiden, gebildet ist.

10

206. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 85, enthaltend zumindest eine weitere entsprechend der dsRNA I nach einem der Ansprüche 81 bis 85 ausgebildete doppelsträngige Ribonukleinsäure (dsRNA II), wobei der eine Strang (as1) oder
15 zumindest ein Abschnitt des einen Strangs (as1) der dsRNA I komplementär zu einem ersten Bereich (B1) des Zielgens ist, und wobei der weitere Strang (as2) oder zumindest ein Abschnitt des weiteren Strangs (as2) der dsRNA II komplementär zu einem zweiten Bereich (B2) des Zielgens ist.

20

207. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 86, wobei die dsRNA I und/oder die dsRNA II eine Länge von weniger als 25, vorzugsweise 19 bis 23, aufeinander folgenden Nukleotidpaaren aufweist/en.

25

208. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 87, wobei der erste (B1) und der zweite Bereich (B2) abschnittsweise überlappen oder aneinander grenzen.

30 209. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 88, wobei das Zielgen eine der Sequenzen SQ001 bis SQ140 aufweist.

210. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 89, wobei das Zielgen aus der folgenden Gruppe ausgewählt ist: Onkogen,

Cytokin-Gen, Id-Protein-Gen, Prionen, Gene von Angiogenese induzierenden Molekülen, von Adhäsions-Molekülen und von Zelloberflächenrezeptoren, Gene von Proteinen, die an metastasierenden und/oder invasiven Prozessen beteiligt sind, Gene von Proteinase sowie von Apoptose- und Zellzyklusregulierende Molekülen.

211. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 90, wobei das Zielgen das MRD1-Gen ist.

10

212. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 91, wobei als dsRNA eine der Sequenzen SQ141 -173 bzw. ein aus zwei jeweils zusammengehörenden Antisinn- (as1/2) und Sinnsequenzen (ss1/2) kombiniertes dsRNA-Konstrukt der Sequenzen SQ141 -

15 173 verwendet wird.

213. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 92, wobei die Expression nach dem Prinzip der RNA-Interferenz gehemmt wird.

20 214. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 93, wobei das Zielgen in pathogenen Organismen, vorzugsweise in Plasmodien, exprimierbar ist.

215. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 94, wobei das Zielgen Bestandteil eines Virus oder Viroids ist.

216. Medikament nach Anspruch 95, wobei das Virus ein humanpathogenes Virus oder Viroid ist.

30 217. Medikament nach Anspruch 95, wobei das Virus oder Viroid ein tier- oder pflanzenpathogenes Virus oder Viroid ist.

218. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 97, wobei ungepaarte Nukleotide durch Nukleosidthiophosphate substituiert sind.

5 219. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 98, wobei zumindest ein Ende (E1, E2) der dsRNA modifiziert ist, um einem Abbau in der Zelle oder einer Dissoziation in die Einzelstränge entgegenzuwirken.

10 220. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 99, wobei der durch die komplementären Nukleotidpaare bewirkte Zusammenhalt der doppelsträngigen Struktur durch mindestens eine chemische Verknüpfung erhöht ist.

15 221. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 100, wobei die chemische Verknüpfung durch eine kovalente oder ionische Bindung, eine Wasserstoffbrückenbindung, hydrophobe Wechselwirkungen, vorzugsweise van-der-Waals- oder Stapelungswechselwirkungen, oder durch Metall-Ionenkoordination gebildet
20 ist.

222. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 101, wobei die chemische Verknüpfung in der Nähe des einen Endes (E1, E2) gebildet ist.

25

223. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 102, wobei die chemische Verknüpfung mittels einer oder mehrerer Verbindungsgruppen gebildet wird, wobei die Verbindungsgruppen vorzugsweise Poly-(oxyphosphinicooxy-1,3-propandiol)- und/oder
30 Oligoethylenglycol-Ketten sind.

224. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 103, wobei die chemische Verknüpfung durch anstelle von Nukleotiden benutzte verzweigte Nukleotidanaloga gebildet ist.

225. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 104, wobei die chemische Verknüpfung durch Purinanaloga gebildet ist.

5 226. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 105, wobei die chemische Verknüpfung durch Azabenzoleinheiten gebildet ist.

227. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 106, wobei
10 zur Herstellung der chemischen Verknüpfung mindestens eine der folgenden Gruppen benutzt wird: Methylenblau; bifunktionelle Gruppen, vorzugsweise Bis-(2-chlorethyl)-amin; N-acetyl-N'-(p-glyoxyl-benzoyl)-cystamin; 4-Thiouracil; Psoralen.

15

228. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 107, wobei die chemische Verknüpfung durch in der Nähe der Enden (E1, E2) des doppelsträngigen Bereichs angebrachte Thiophosphoryl-Gruppen gebildet ist.

20

229. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 108, wobei die chemische Verknüpfung durch in der Nähe der Enden (E1, E2) befindliche Tripelhelix-Bindungen hergestellt ist.

25 230. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 109, wobei die dsRNA I/II in micellare Strukturen, vorteilhafterweise in Liposomen, eingeschlossen ist.

231. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 110, wobei
30 die dsRNA I an mindestens ein von einem Virus stammendes, davon abgeleitetes oder ein synthetisch hergestelltes virales Hüllprotein gebunden, damit assoziiert oder davon umgeben ist/sind.

232. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 111, wobei das Hüllprotein vom Polyomavirus abgeleitet ist.

233. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 112, wobei
5 das Hüllprotein das Virus-Protein 1 (VP1) und/oder das Virus-Protein 2 (VP2) des Polyomavirus enthält.

234. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 113, wobei
bei Bildung eines Kapsids oder kapsidartigen Gebildes aus dem
10 Hüllprotein die eine Seite zum Inneren des Kapsids oder kapsidartigen Gebildes gewandt ist.

235. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 114, wobei
der eine Strang (as1, as2) der dsRNA I zum primären oder pro-
15 zessierten RNA-Transkript des Zielgens komplementär ist.

236. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 115, wobei
die Zelle eine Vertebratenzelle oder eine menschliche Zelle
ist.
20

237. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 116, wobei
der erste (B1) und der zweite Bereich (B2) voneinander beab-
standet sind.

238. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 117, wobei
25 die dsRNA in einer Menge von höchstens 5 mg pro Verabreichungseinheit enthalten ist.

239. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 118, wobei
30 die dsRNA in eine Pufferlösung aufgenommen ist.

240. Medikament nach einem der Ansprüche 81 bis 119, wobei
die dsRNA oral oder mittels Injektion oder Infusion intrave-

nös, intratumoral, inhalativ, intraperitoneal verabreichbar ist.

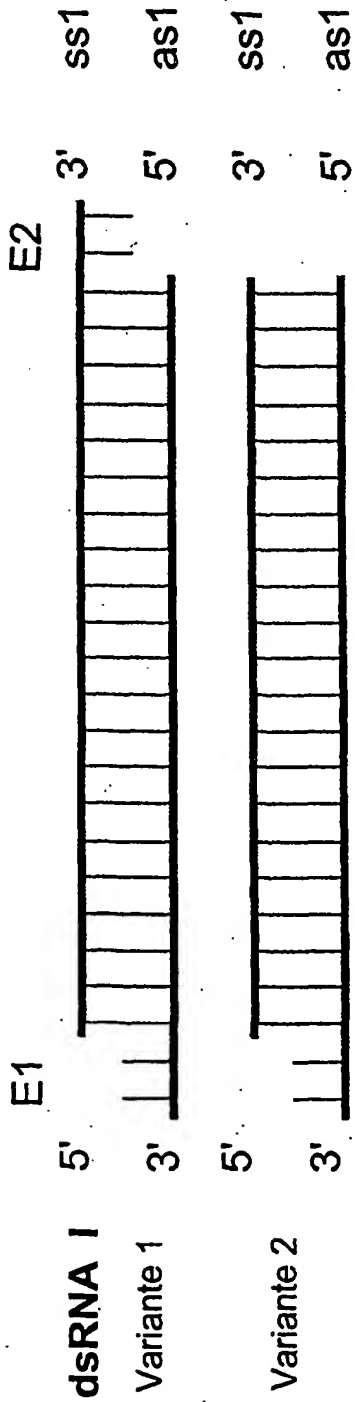


Fig. 1a

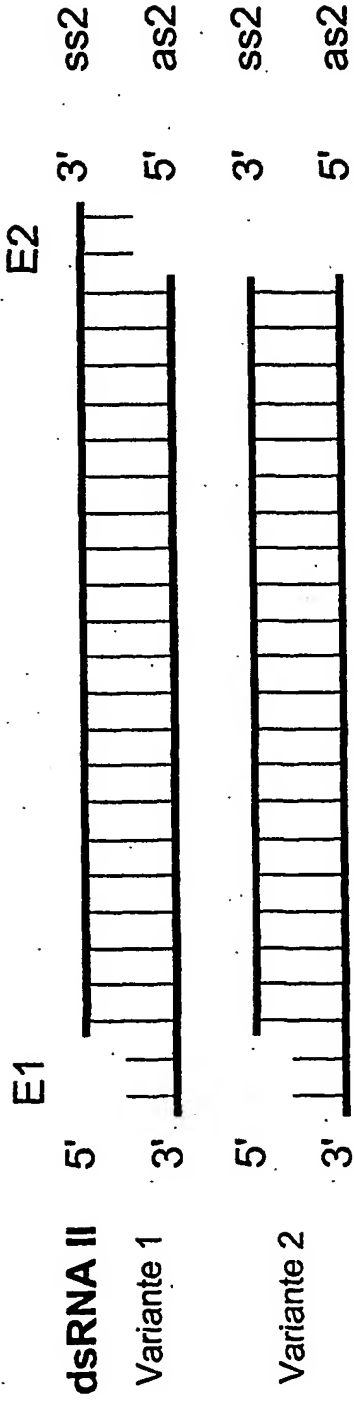


Fig. 1b

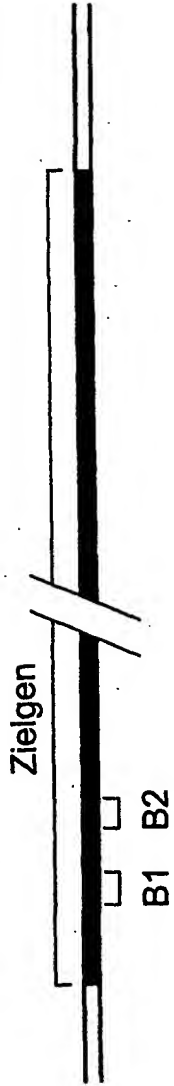


Fig. 2

2/20

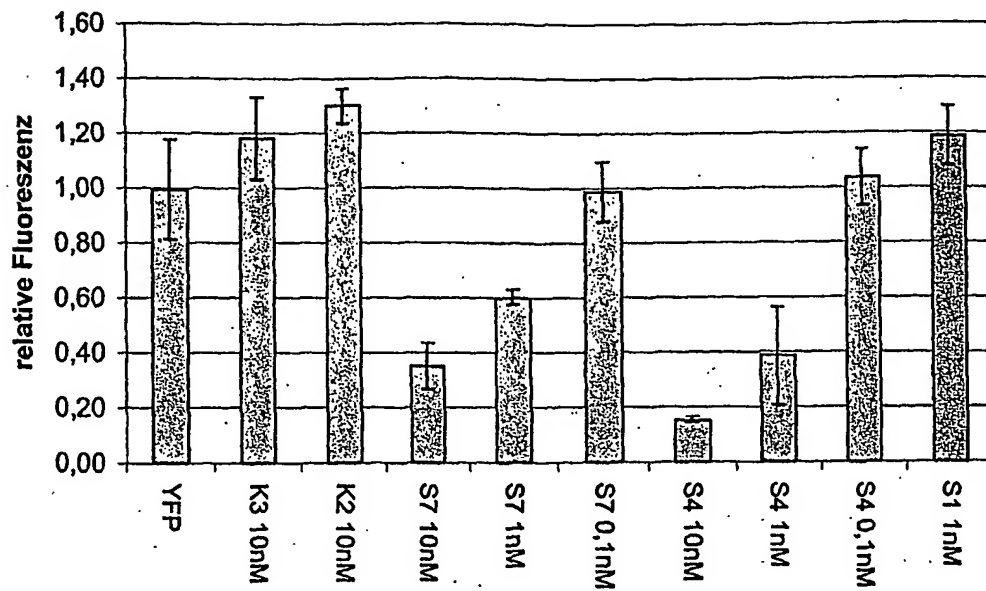


Fig. 3

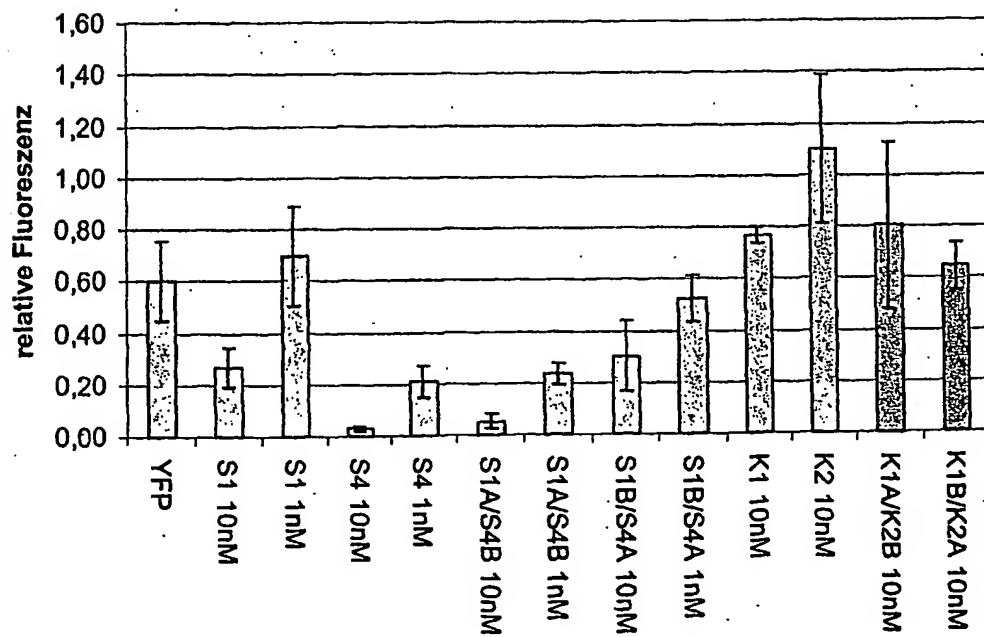


Fig. 4

3/20

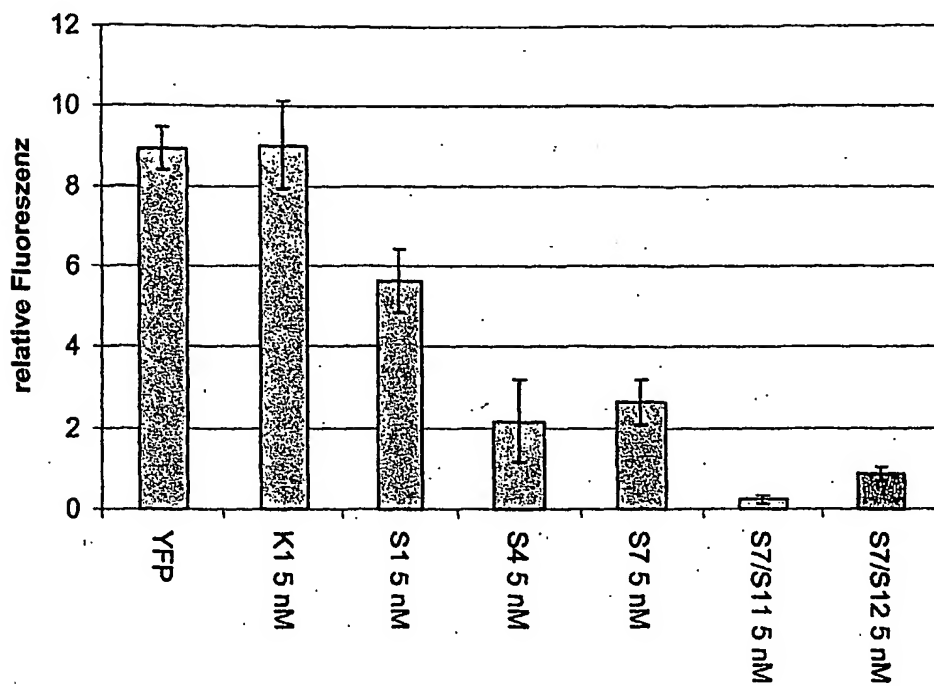


Fig. 5

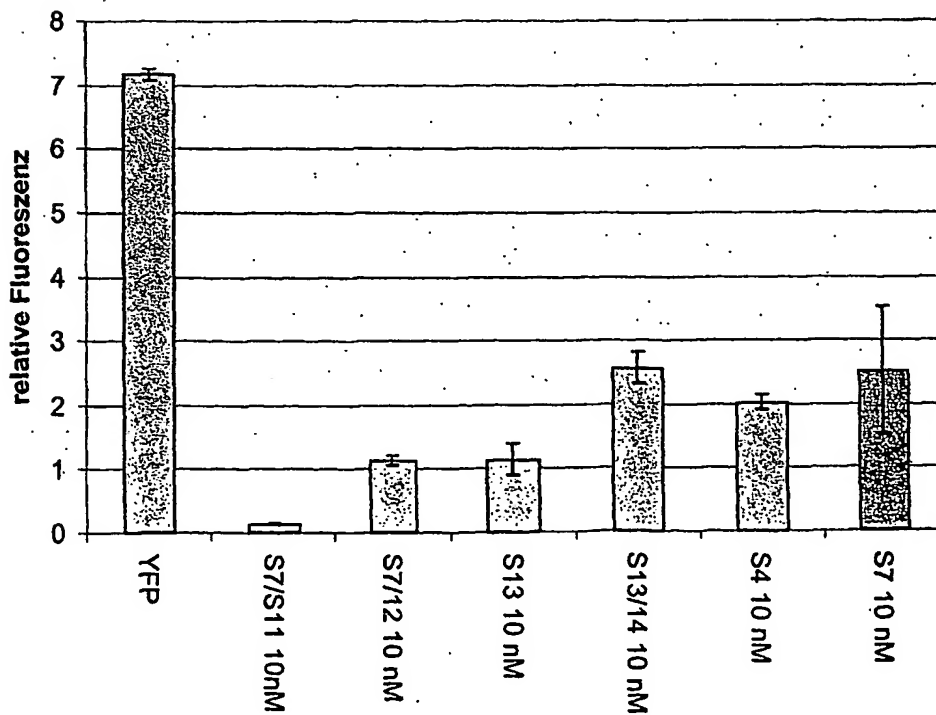


Fig. 6

4/20

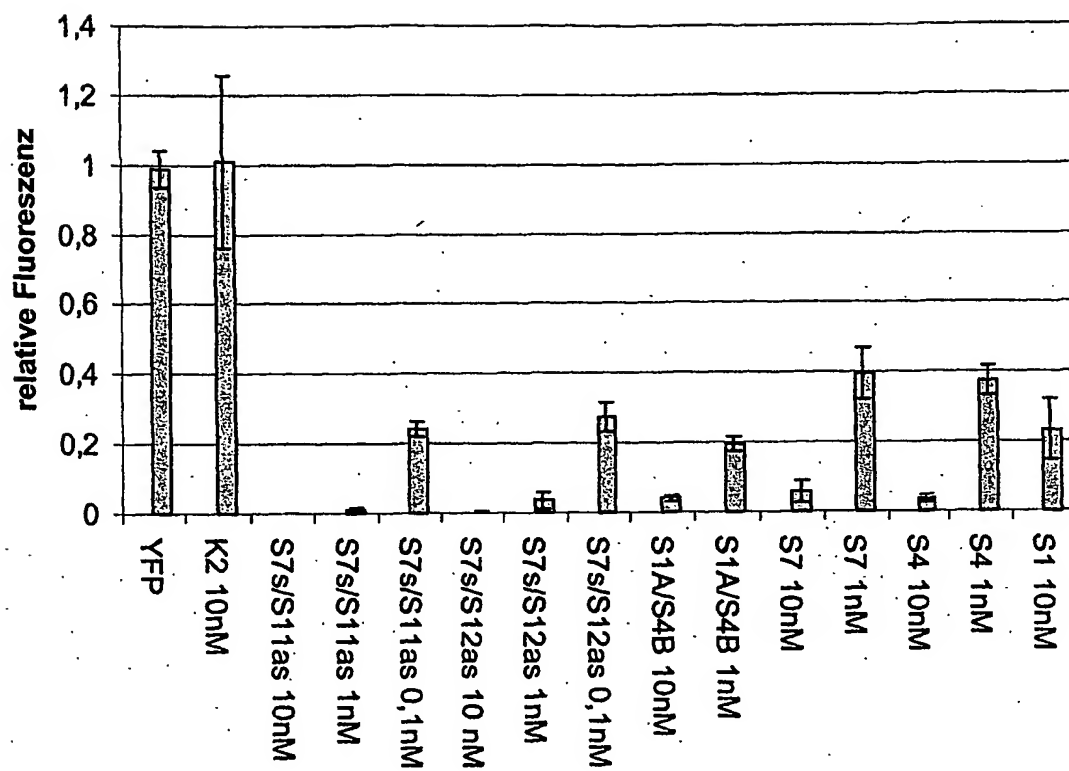


Fig. 7

5/20

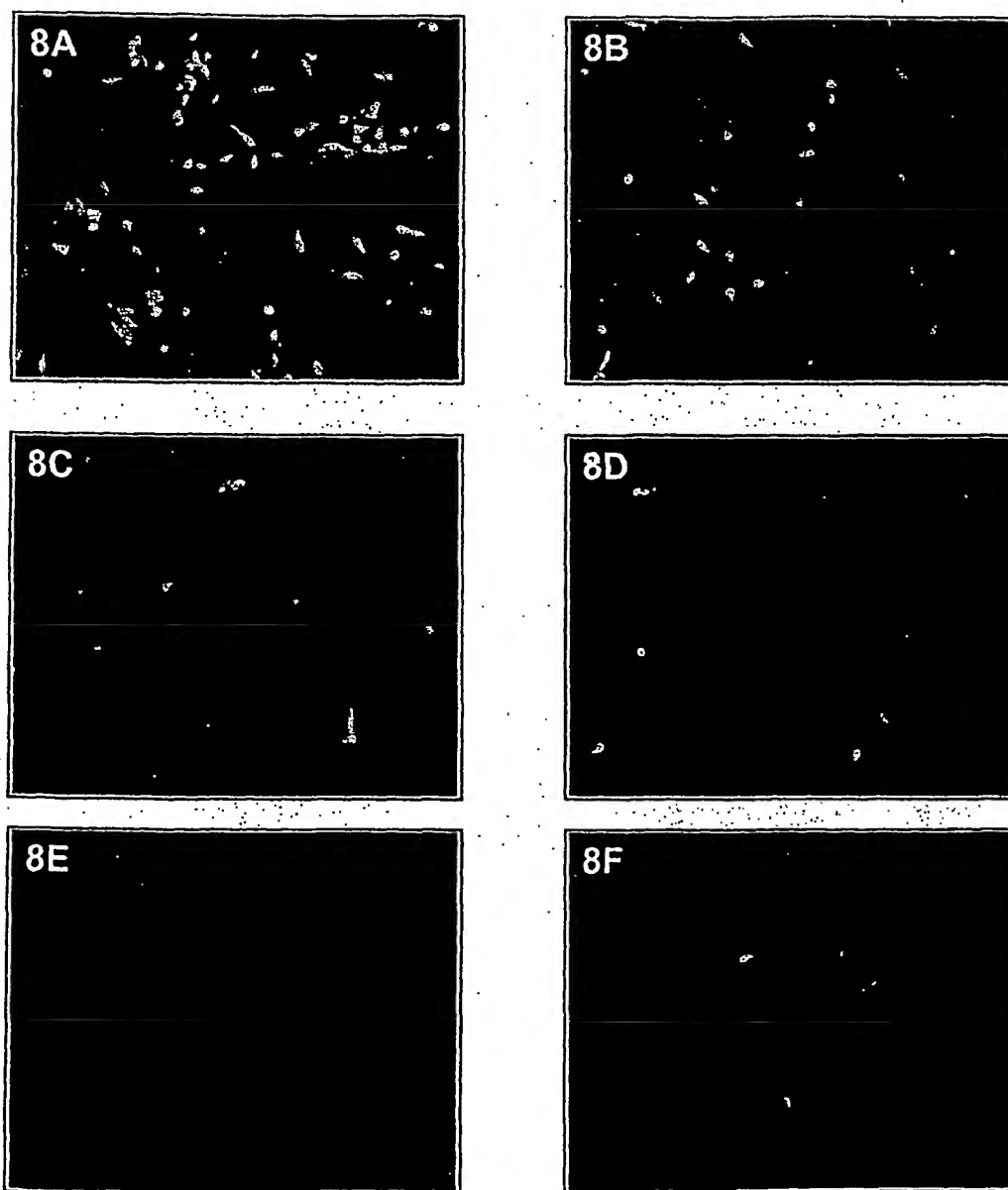


Fig. 8

6/20

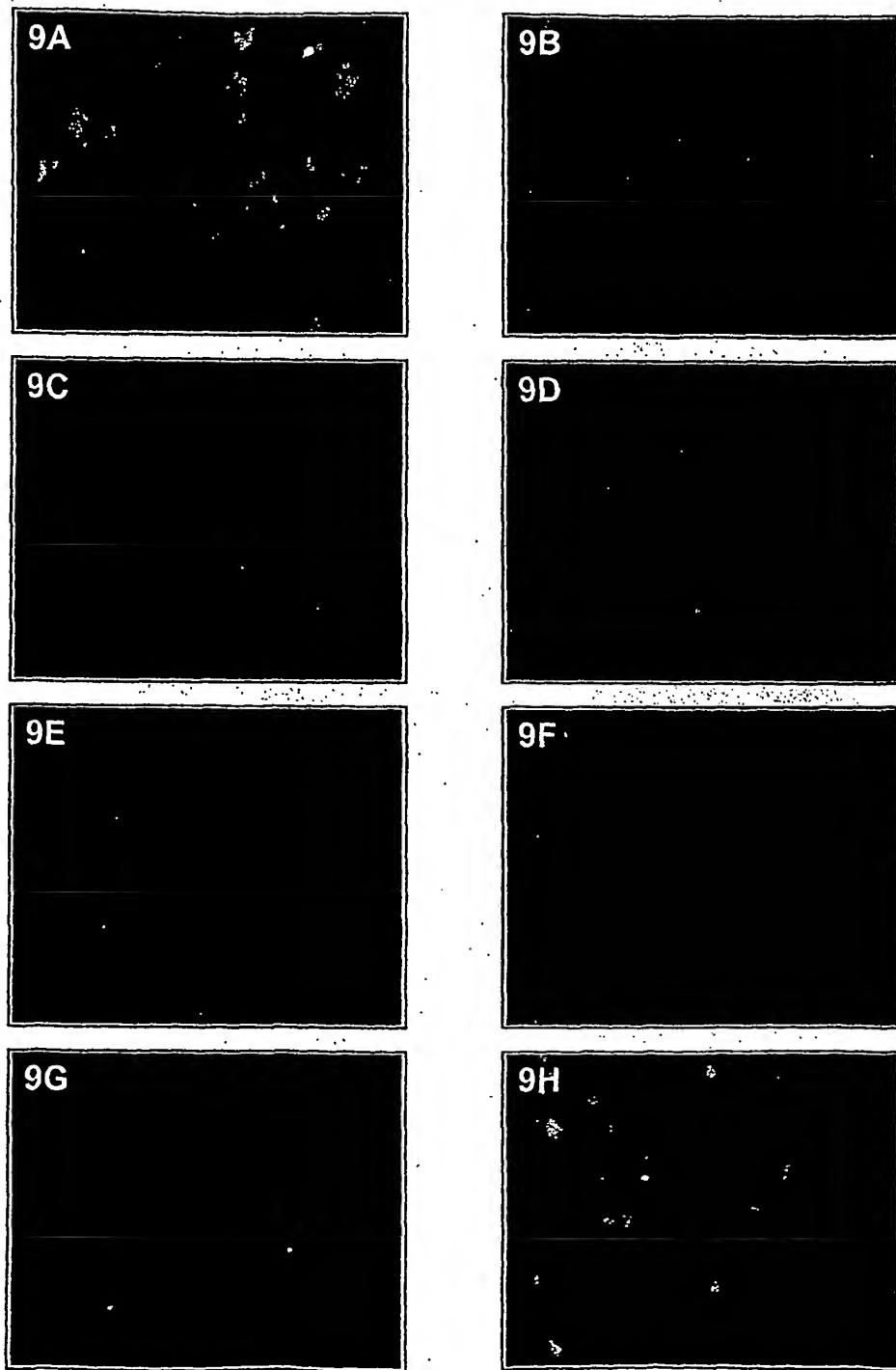


Fig. 9

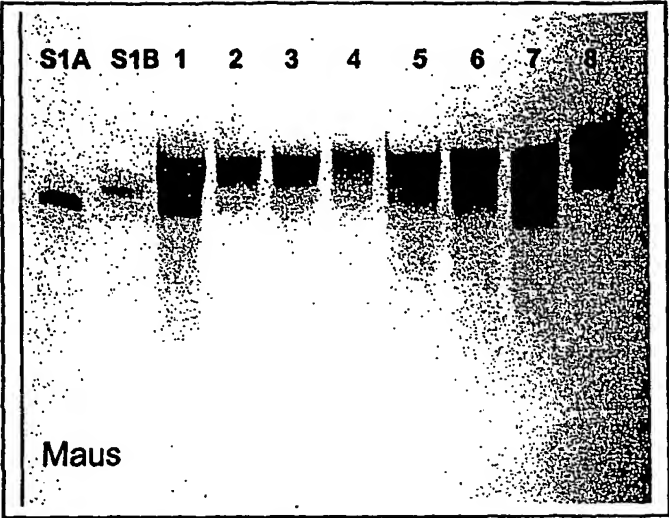


Fig. 10

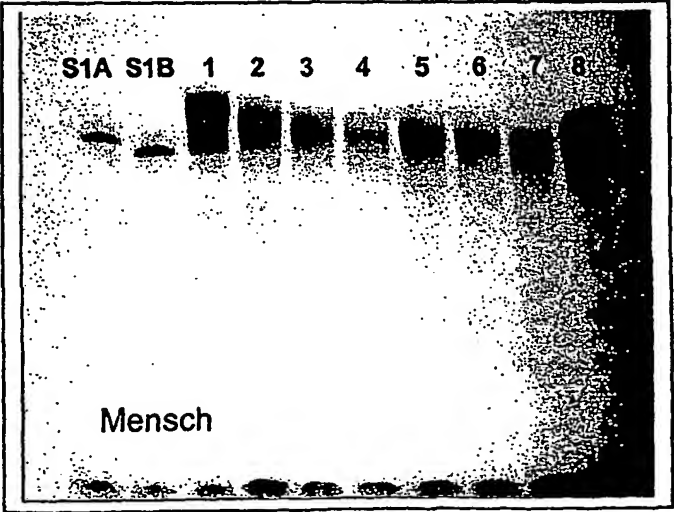


Fig. 11

8/20

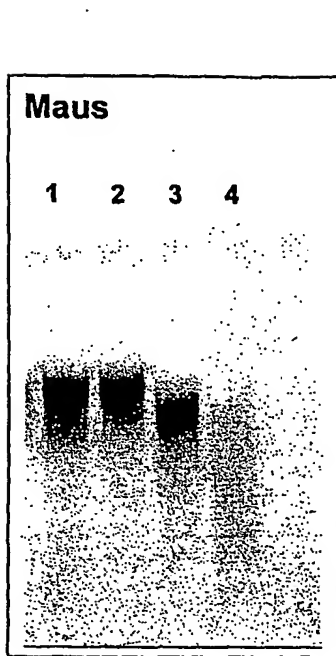


Fig. 12

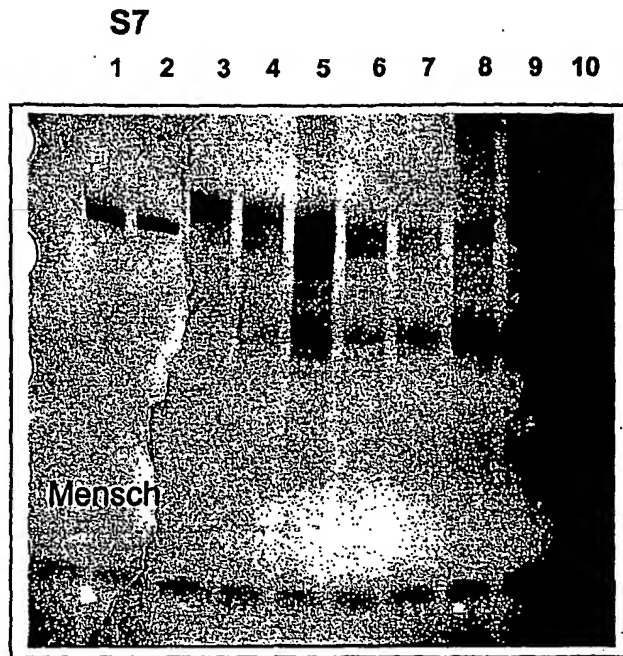


Fig. 13

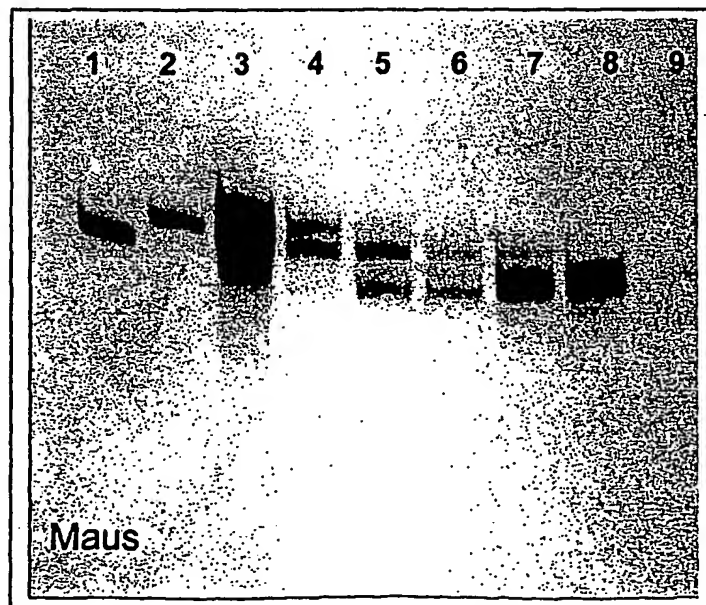


Fig. 14

9/20

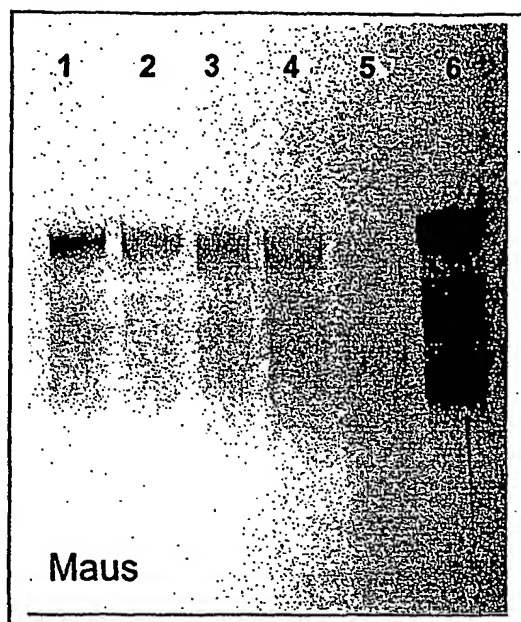


Fig. 15

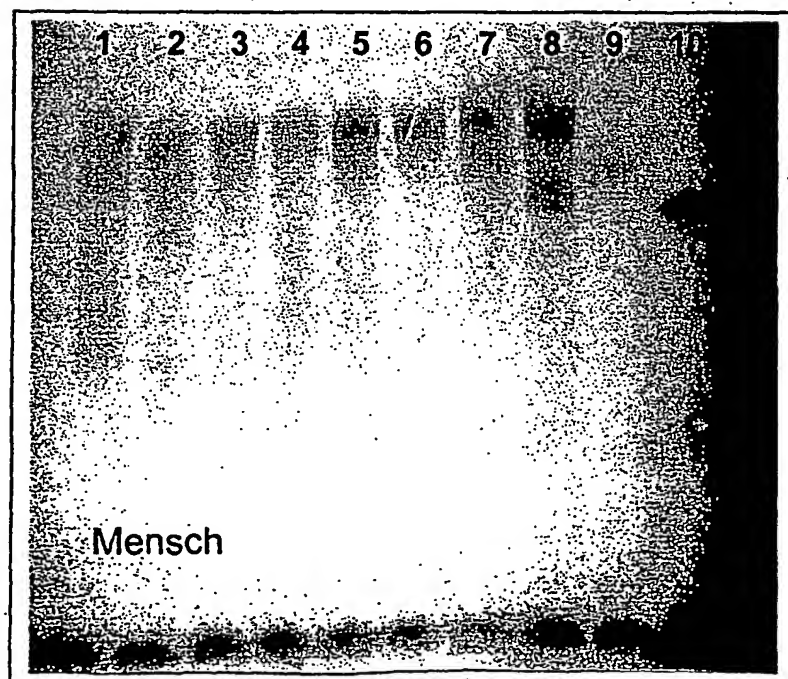


Fig. 16

10/20

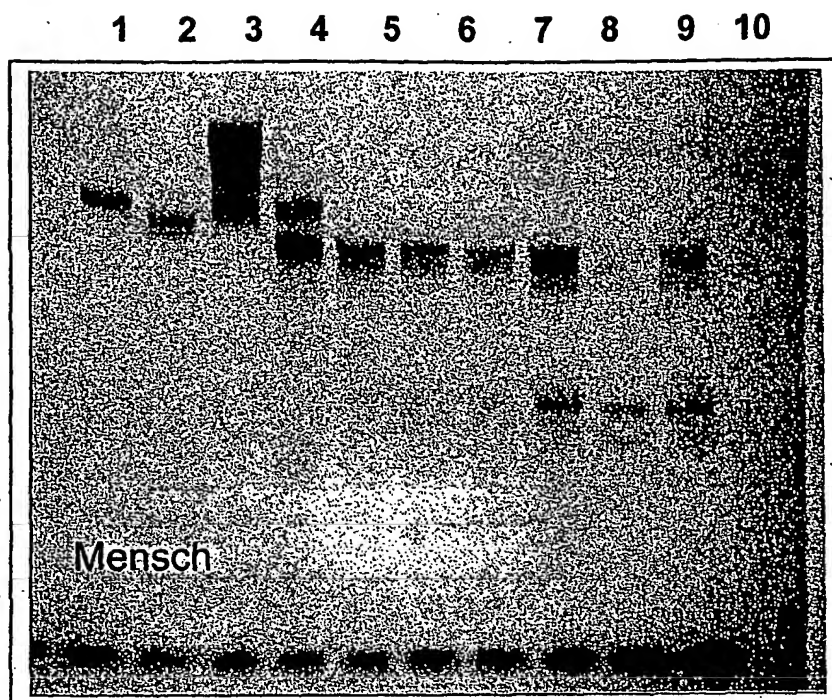


Fig. 17

11/20

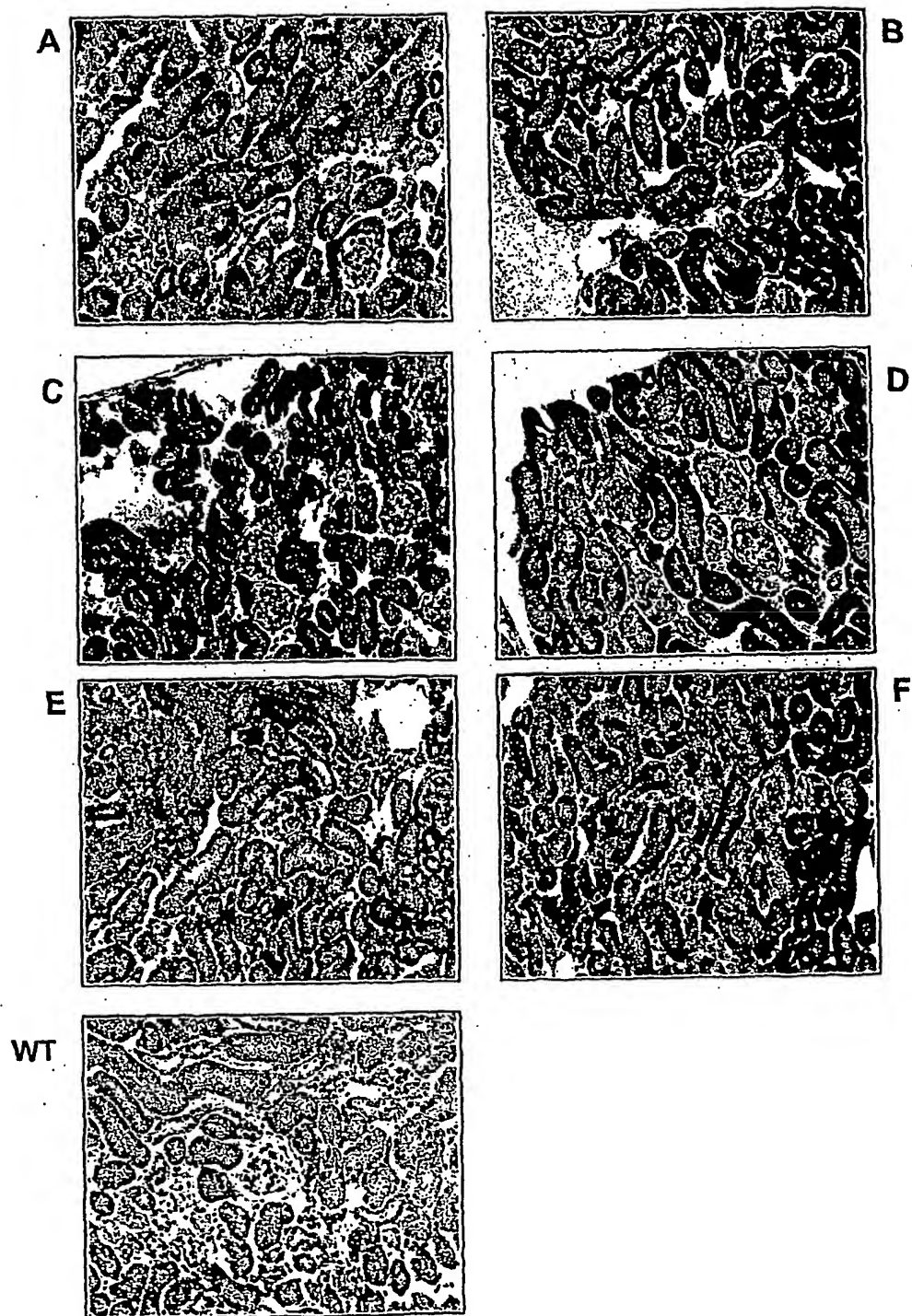


Fig. 18

12/20

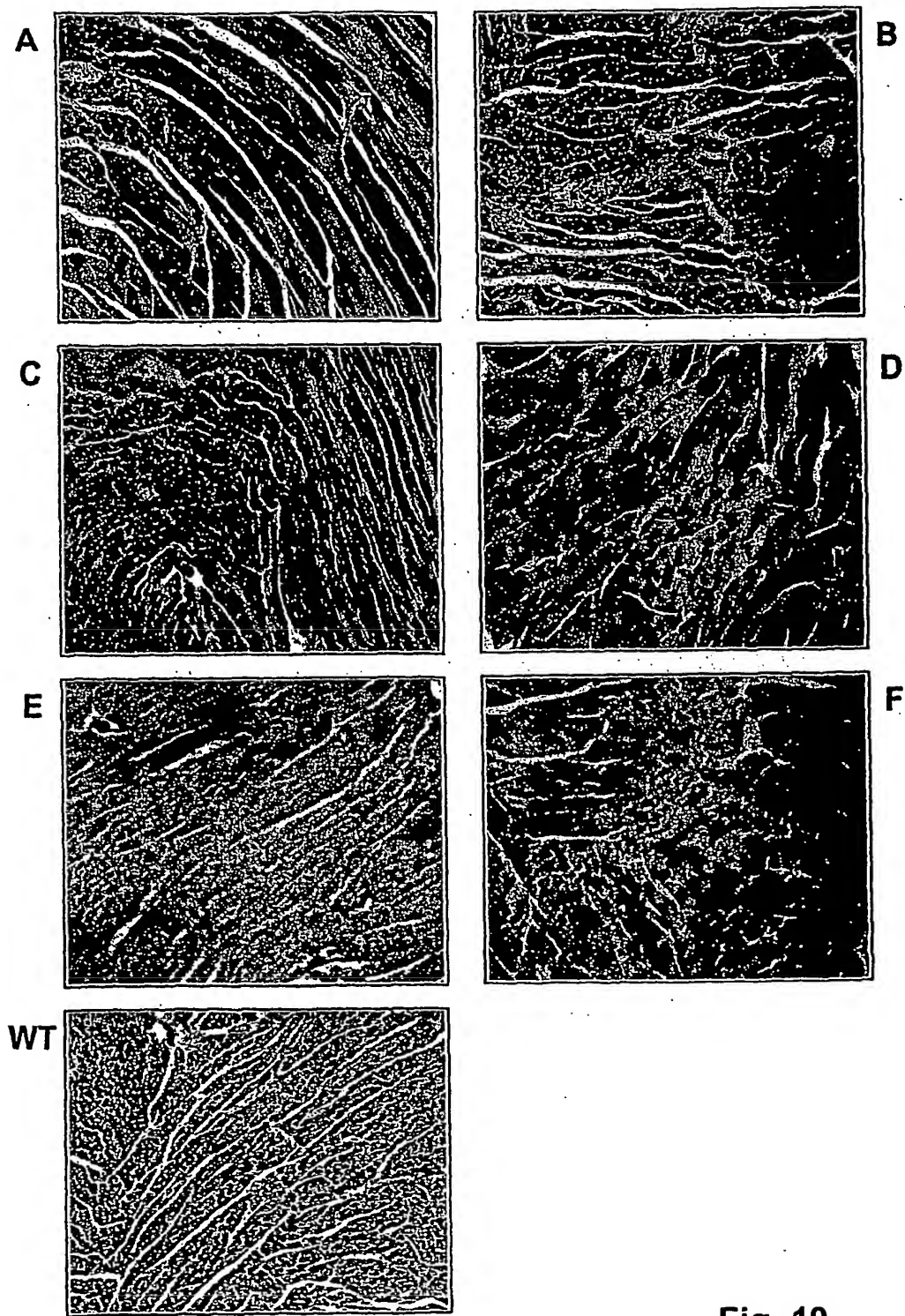


Fig. 19

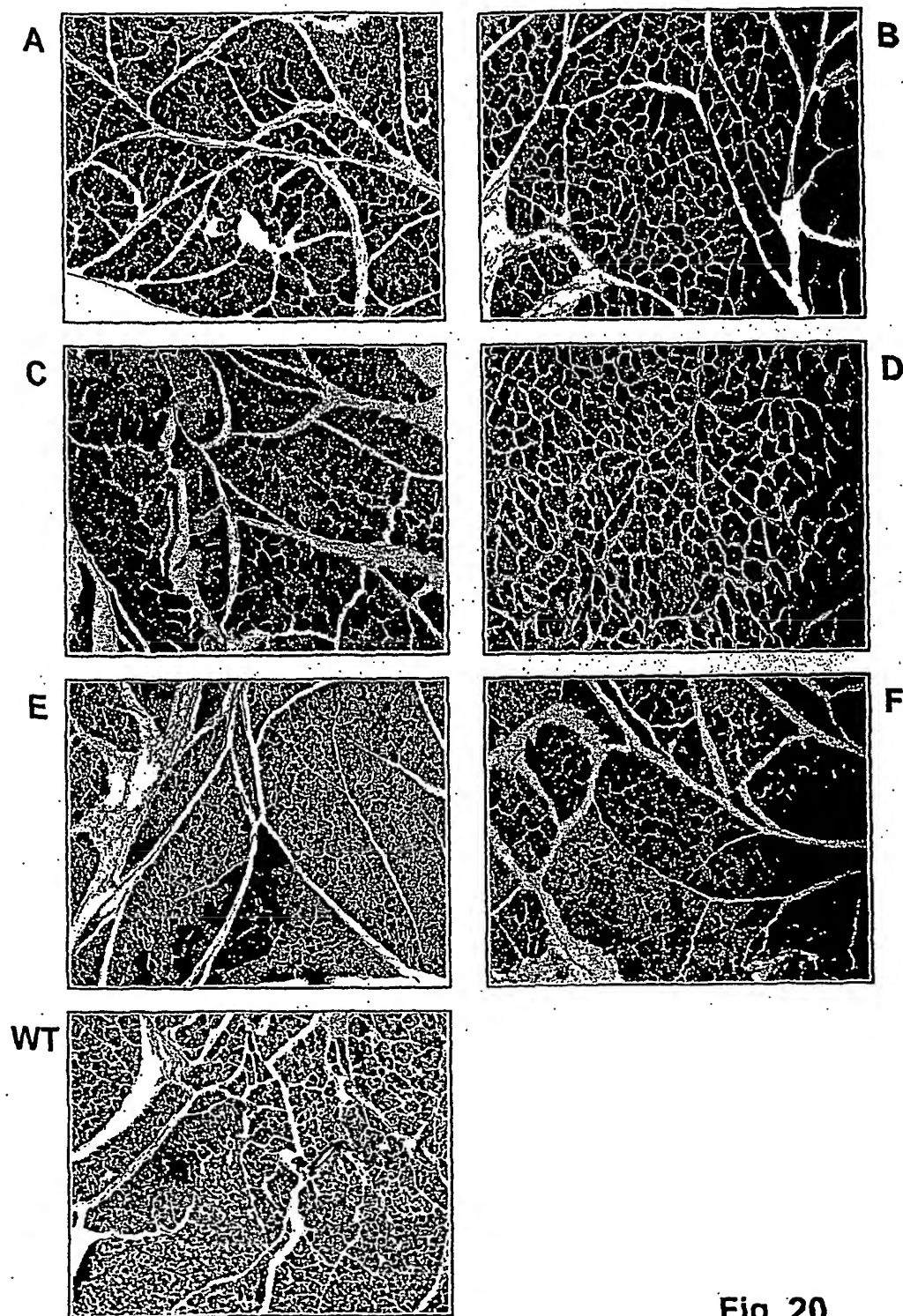


Fig. 20

14/20

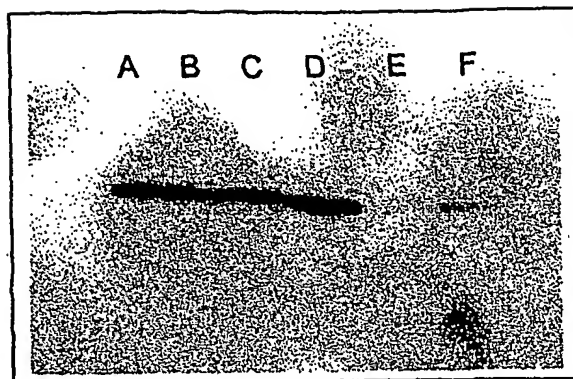


Fig. 21

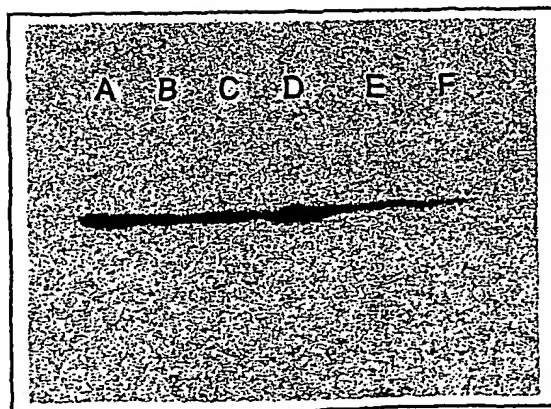


Fig. 22

15/20

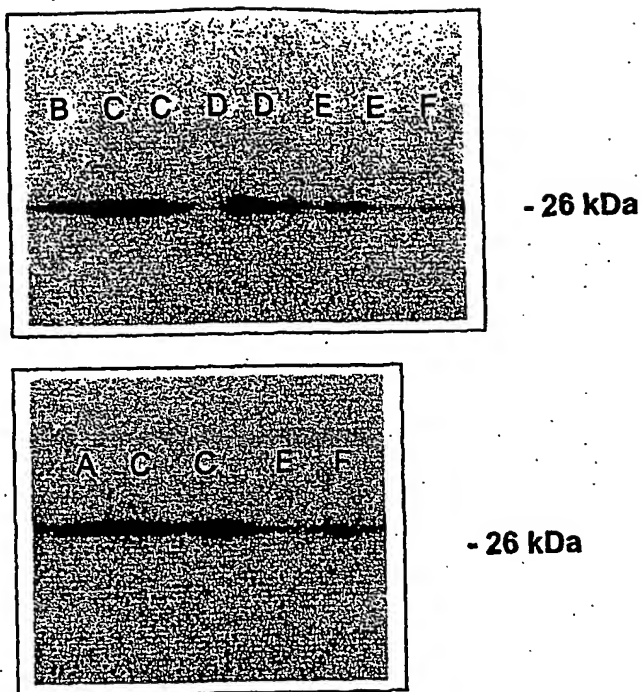


Fig. 23

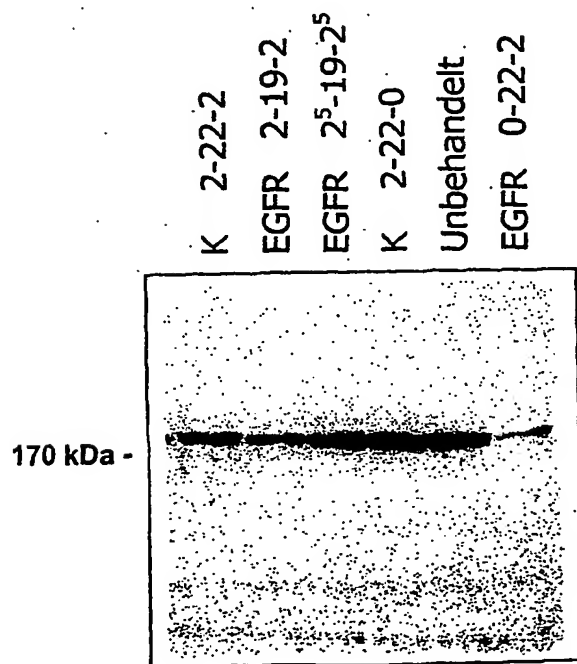


Fig. 24

16/20

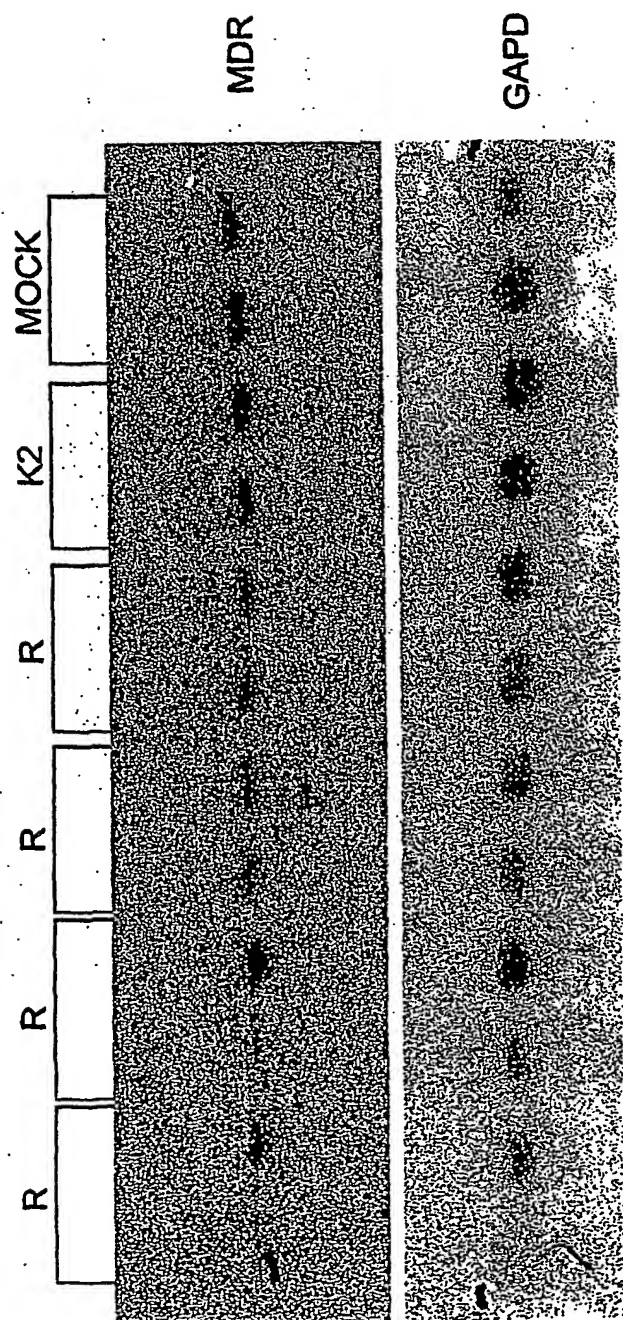


Fig. 25a

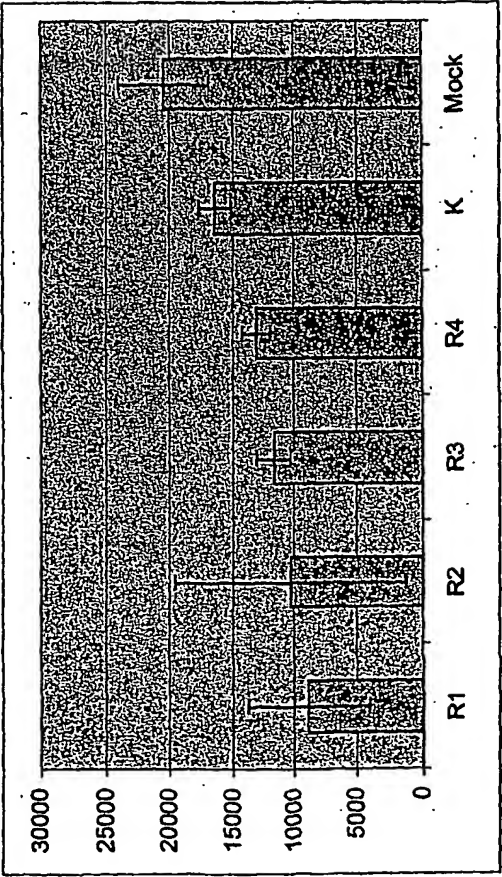


Fig. 25b

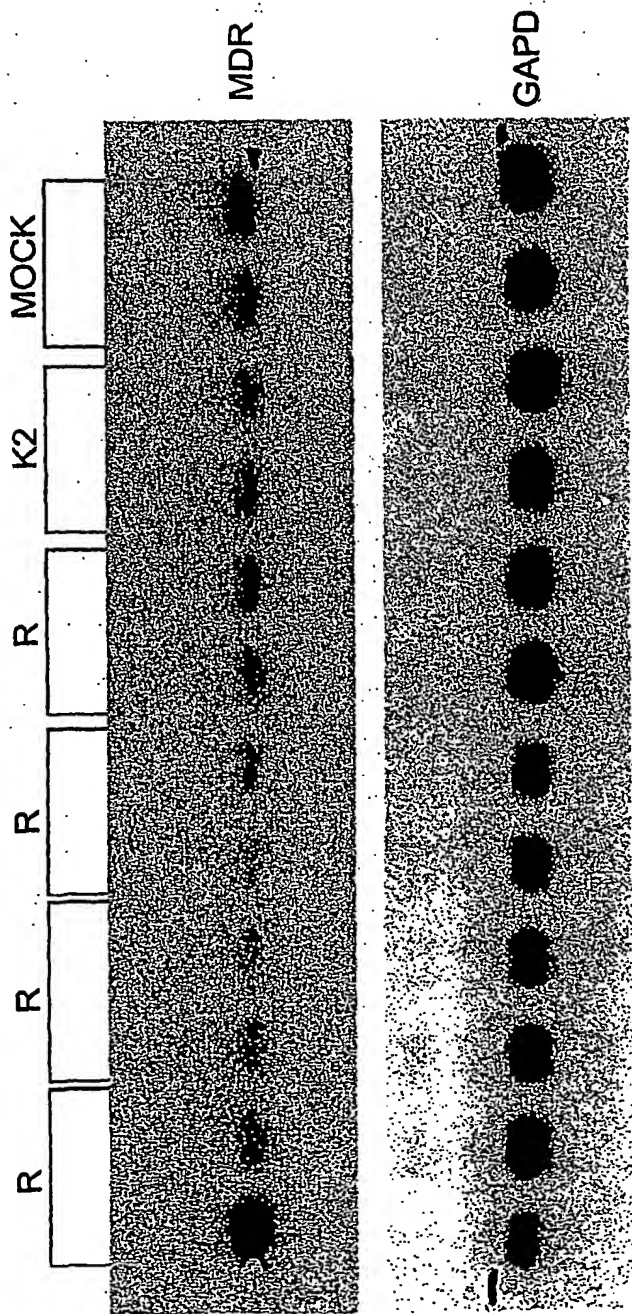


Fig. 26a

19/20

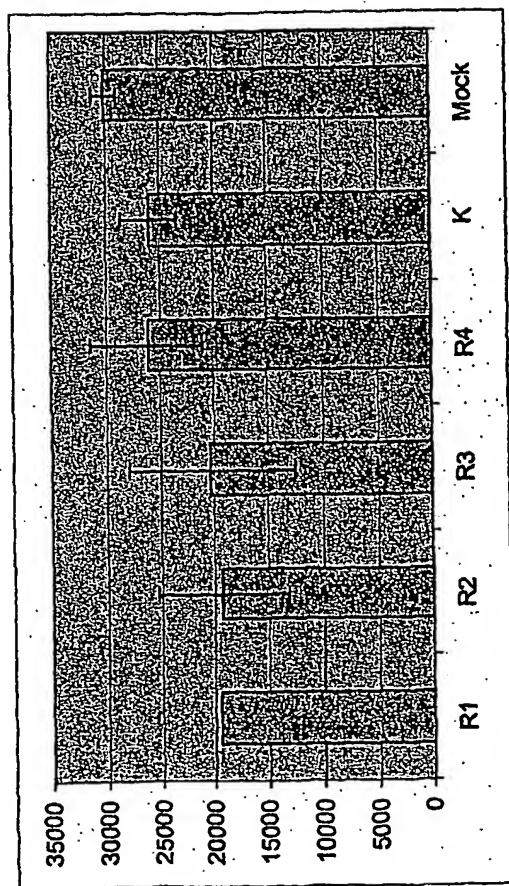


Fig. 26b

20/20

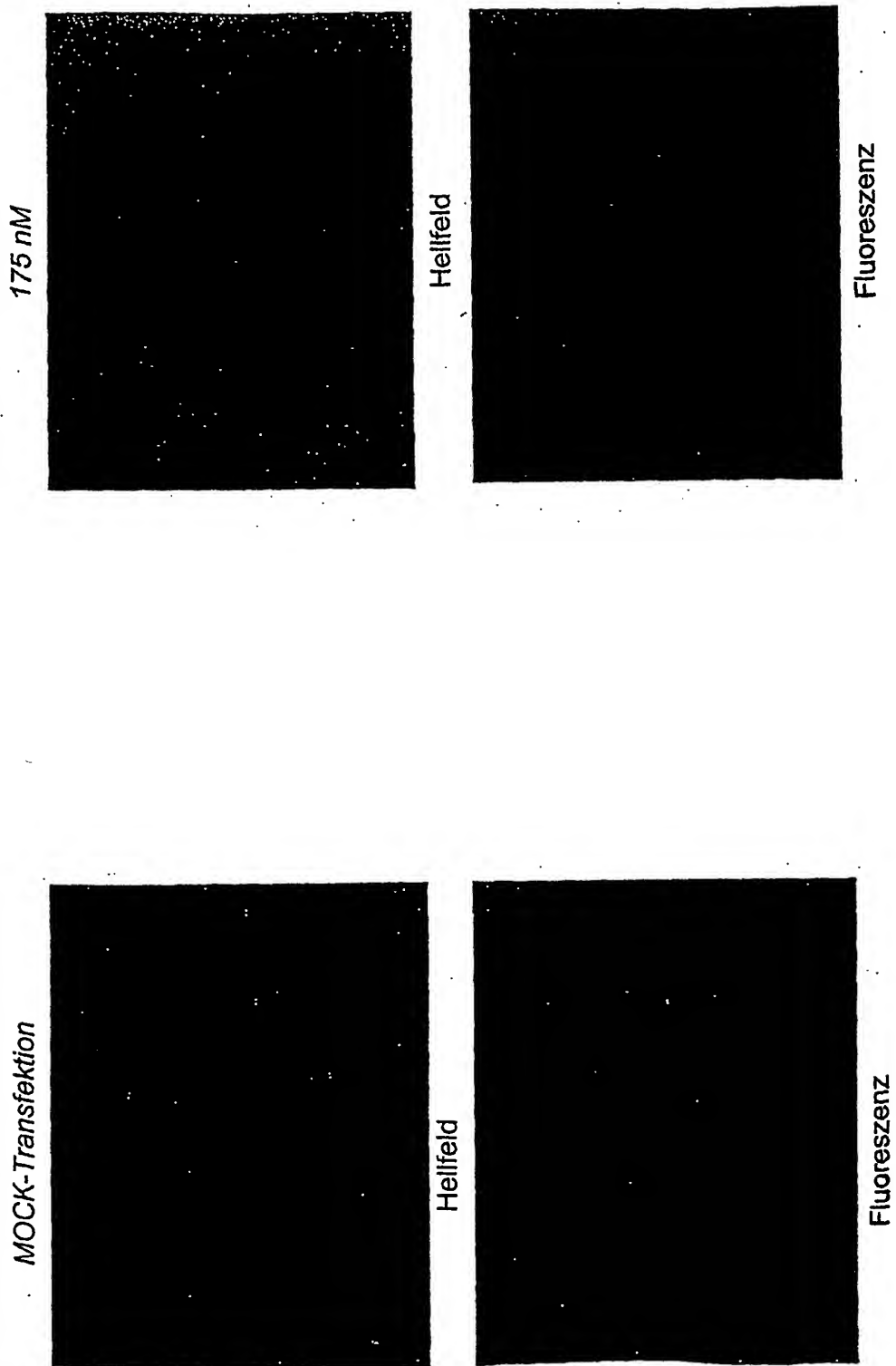


Fig. 27

SEQUENZPROTOKOLL

<110> Ribopharma AG

5 <120> Verfahren zur Hemmung der Expression
eines Zielgens

<130>

10 <140>

<141>

<160> 142

15 <170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 2955

<212> DNA

20 <213> Homo sapiens

<300>

<302> Eph A1

<310> NM00532

25

<300>

<302> ephrin A1

<310> NM00532

30 <400> 1

atggagcggc	gctggccct	ggggctaggg	ctggtgctgc	tgctctgcgc	cccgctgccc	60	
ccggggggcgc	gcgccaagga	agttactctg	atggacacaa	gcaaggcaca	gggagagctg	120	
ggctggctgc	tggatcccc	aaaagatggg	tggagtgaac	agcaacagat	actgaatggg	180	
acacccctct	acatgtacca	ggactgcccc	atgcaaggac	gcagagacac	tgaccactgg	240	
35	cttcgctcca	attggatcta	ccgcggggag	gaggtctccc	gcgtccacgt	ggagctgcag	300
	ttcaccgtgc	gggactgcaa	gagttccct	gggggagccg	ggcctctggg	ctgcaaggag	360
	accttcaacc	ttctgtacat	ggagagtgc	caggatgtgg	gcattcagct	ccgacggccc	420
	ttgttccaga	aggtaaccac	ggtggctgca	gaccagagct	tcaccattcg	agaccttgcg	480
	tctggctccg	tgaagctgaa	tgtggagcgc	tgctctctgg	gccgcctgac	ccgcctgggc	540
40	ctctacctcg	ctttccacaa	cccgggtgcc	tgtgtggccc	tggtgtctgt	ccgggtcttc	600
	taccagcgct	gtcctgagac	cctgaatggc	ttggcccaat	tcccagacac	tctgcctggc	660
	cccgctgggt	tggtggaagt	ggcgggcacc	tgcttgcccc	acgcgcgggc	cagccccagg	720
	ccctcaggtg	caccccgcat	gcactgcagc	cctgatggcg	agtggctggt	gcctgtagga	780
	cgggtgccact	gtgagcctgg	ctatgaggaa	ggtggcagtg	gcgaagcatg	tgttgcctgc	840
45	cctagcggct	cctaccggat	ggacatggac	acacccatt	gtctcacgtg	ccccagcag	900
	agcactgctg	agtctgaggg	ggccaccatc	tgtacctgtg	agagcggcca	ttacagagct	960
	cccggggagg	gccccagggt	ggcatgcaca	ggtccccct	cggccccccg	aaacctgagc	1020
	ttctctgcct	cagggactca	gctctccctg	cgttggaac	ccccagcaga	tacgggggga	1080
	cgccaggatg	tcagatacag	tgtgaggtgt	tcccagtgtc	agggcacagc	acaggacggg	1140
50	gggccctgcc	agccctgtgg	ggtgggcgtg	cacttctcgc	cgggggcccg	ggcgtctcacc	1200
	acacctgcag	tgcatgtcaa	tggccttgaa	ccttatgcc	actacacctt	taatgtggaa	1260
	gccccaaaatg	gagtgtcagg	gctgggcagc	tctggccatg	ccagcacctc	agtcagcatc	1320
	agcatggggc	atgcagagtc	actgtcaggc	ctgtctctga	gactggtgaa	gaaagaaccg	1380
	aggcaactag	agctgacctg	ggcgggggtcc	cggccccgaa	gccctggggc	gaacctgacc	1440
55	tatgagctgc	acgtgctgaa	ccaggatgaa	gaacgggtacc	agatgggtct	agaaccagg	1500
	gtcttgctga	cagagctgca	gcctgacacc	acatacatcg	tcagagtcog	aatgctgacc	1560
	ccactgggtc	ctggcccttt	ctcccctgat	catgagtttc	ggaccagccc	accagtgtcc	1620
	aggggcctga	ctggaggaga	gattgtagcc	gtcatctttg	ggctgctgct	tggtgcagcc	1680
	ttgctgcttg	ggattctcgt	tttccgggtcc	aggagagccc	agcggcagag	gcagcagagg	1740
60	cacgtgaccg	cgccaccgat	gtggatcgag	aggacaagct	gtgctgaagc	cttatgtggt	1800
	acctccaggc	atacgaggac	cctgcacagg	gagccttgga	ctttaccctg	aggctggtct	1860
	aattttcctt	cccggggagct	tgatccagcg	tggctgatgg	tggacactgt	cataggagaa	1920

5 ggagagtttg ggaagtgtg tggaggagacc ctcaggctcc ccagccagga ctgcaagact 1980
 gtggccatta agaccttaaa agacacatcc ccagggtggcc agtgggtggaa cttccttcga 2040
 gaggcaacta tcatggggcca gtttagccac ccgcatattc tgcattctgga aggcgtcgtc 2100
 acaaagcgaa agccgatcat gatcatcaca gaattttatgg agaatgcagc cctgggatgcc 2160
 ttcttgaggg agcgggagga ccagctggtc cctgggcagc tagtgggccat gctgcagggc 2220
 atagcatctg gcatgaacta cctcagtaat cacaattatg tccaccggga cctgggtgcc 2280
 agaaacatct tggatgaatca aaacctgtgc tgcaagggtg ctgacttttg cctgactcgc 2340
 ctcttgatg actttgatgg cacatacgaa acccagggag gaaagatccc tatccgttgg 2400
 acagcccctg aagccattgc ccacggatc ttaccacag ccagcgatgt gtggagcttt 2460
 10 gggatttgtg tgtgggaggt gctgagcttt ggggacaagc cttatgggga gatgagcaat 2520
 caggagggtta tgaagagcat tgaggatggg taccggttgc cccctcctgt ggactgcct 2580
 gccctctgt atgagctcat gaagaactgc tgggcatatg accgtgcccg ccggccacac 2640
 ttccagaagc ttcaggcaca tctggagcaa ctgcttgcca accccactc cctgcggacc 2700
 attgccaact ttgacccag ggtgactctt cgctgcccc gcctgagtggt ctcagatggg 2760
 15 atcccgatc gaaccgtctc tgagtggctc gactccatc gcatgaaacg ctacatcctg 2820
 cacttcact cggctgggct ggacaccatg gagtgtgtgc tggagctgac cgctgaggac 2880
 ctgacgcaga tgggaatcac actgcccggg caccagaagc gcattctttg cagtattcag 2940
 ggattcaagg actga 2955

20 <210> 2
 <211> 3042
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

25 <300>
 <302> ephrin A2
 <310> XM002088

30 <400> 2
 gaagttgcgc gcaggccggc gggcgggagc ggacaccgag gccggcgtgc aggcgtgcgc 60
 gtgtgcggga gccgggctcg gggggatcgg accgagagcg agaagcgcg catggagctc 120
 caggcagccc gcgcctgctt cgccctgctg tggggctgtg cgctggccgc ggccgcggcg 180
 35 gcgcagggca aggaagtggg actgctggac tttgctgcag ctggagggga gctcggctgg 240
 ctcacacacc cgtatggcaa aggggtgggac ctgatgcaga acatcatgaa tgacatgccg 300
 atctacatgt attccgtgtg caacgtgatg tctggcgacc aggacaactg gctccgcacc 360
 aactgggtgt accgaggaga ggctgagcgt atcttcattg agctcaagtt tactgtacgt 420
 gactgcaaca gcttccctgg tggcgccagc tcctgcaagg agactttcaa cctctactat 480
 gccgagtcgc acctggacta cggcaccaac ttccagaagc gcctgttcac caagattgac 540
 40 accattgcgc ccgatgagat caccgtcagc agcgacttcg aggcacgcca cgtgaagctg 600
 aacgtggagg agcgtccgt ggggcccgtc acccgcaaag gcttctacct ggccttcagc 660
 gatcgggtg cctgtgtggc gctgctctcc gtcctgtct actacaagaa gtgccccag 720
 ctgctgcagg gcctggccca cttccctgag accatcgccg gctctgatgc accttccctg 780
 gccactgtgg ccggcacctg tgtggaccat gccgtggtgc caccgggggg tgaagagccc 840
 45 cgtatgcact gtgcagtgga tggcgagtgg ctggtgcca ttgggcagtg cctgtgccag 900
 gcaggctacg agaaggtgga ggatgcctgc caggcctgct cgcctggatt ttttaagttt 960
 gaggcatctg agagcccctg cttggagtgc cctgagcaca cgctgccatc ccctgagggt 1020
 gccacctcct gcgagtgtga ggaaggcttc ttccgggcac ctcaggaccc agcgtcgatg 1080
 ccttgccacac gacccccctc cgccccacac tacctcacag ccgtgggcat ggggtgccaa 1140
 50 gtggagctgc gctggacgcc ccctcaggac agcggggggc gcgaggacat tgtctacagc 1200
 gtcacctgcg aacagtgtcg gcccgagtct ggggaatgcg ggccgtgtga ggccagtgtg 1260
 cgctactcgg agcctcctca cggactgacc cgcaccagtg tgacagttag cgacctggag 1320
 cccacatga actacacctt caccgtggag gcccgcaatg gcgtctcagg cctggtaacc 1380
 agccgcagct tccgtactgc cagtgtcagc atcaaccaga cagagcccc caaggtgagg 1440
 55 ctggaggggc gcagcaccac ctgccttagc gtctcctgga gcaccccc gccgcagcag 1500
 agccgagtgt ggaagtacga ggtcacttac cgcaagaagg gagactccaa cagtacaa 1560
 gtgcgccgca ccgagggttt ctccgtgacc ctggacgacc tggccccaga caccacctac 1620
 ctggtccagg tgcaggcact gacgcaggag ggccaggggg ccggcagcaa ggtgcacgaa 1680
 ttccagacgc tgtccccgga gggatctggc aacttggcgg tgattggcgg cgtggctgtc 1740
 60 ggtgtggtcc tgcttctggt gctggcagg gttggcttct ttatccaccg caggaggaag 1800
 aaccagcgtg ccgcagctc cccggaggac gtttacttct ccaagtcaga acaactgaag 1860
 cccctgaaga catacgtgga cccccacaca tatgaggacc ccaaccaggc tgtgttgaag 1920

5 ttcactaccg agatccatcc atcctgtgtc actcggcaga aggtgatcgg agcaggagag 1980
 tttggggagg tgtacaaggg catgctgaag acatcctcgg ggaagaagga ggtgccgggtg 2040
 gccatcaaga cgctgaaagc cggctacaca gagaagcagc gaggaggactt cctcggcgag 2100
 gccggcatca tgggccagtt cagccaccac aacatcatcc gcctagaggg cgtcatctcc 2160
 aaatacaagc ccatgatgat catcactgag tacatggaga atggggccct ggacaagttc 2220
 ctccgggaga aggatggcga gttcagcgtg ctgcagctgg tgggcatgct gcggggcgatc 2280
 gcagctggca tgaagtacct ggccaacatg aactatgtgc accgtgacct ggctgccccg 2340
 aacatcctcg tcaacagcaa cctgggtctgc aagggtgtctg actttggcct gtcccgctg 2400
 ctggaggacg accccgaggg cacctacacc accagtggcg gcaagatccc catccgctgg 2460
 10 accgcccccg aggccatttc ctaccggaag ttacacctctg ccagcgacgt gtggagcttt 2520
 ggcattgtca tgtgggaggt gatgacctat ggcgagcggc cctactggga gttgtccaac 2580
 cacgaggtga tgaagccat caatgatggc ttccggctcc ccacacccat ggactgcccc 2640
 tccgccatct accagctcat gatgcagtgc tggcagcagg agcgtgcccc ccgccccaa 2700
 ttccgtgaca tcgtcagcat cctggacaag ctcatctcgtg cccctgactc cctcaagacc 2760
 15 ctggctgact ttgacccccg cgtgtctatc cggctcccca gcacgagcgg ctcggagggg 2820
 gtgccccttc gcacggtgtc cgagtggctg gagtccatca agatgcagca gtatacggag 2880
 cacttcctgg cggccggcta cactgccatc gagaagggtgg tgcagatgac caacgcagac 2940
 atcaagagga ttggggtgcg gctgccccgg caccagaagc gcatcgccct cagcctgctg 3000
 20 ggactcaagg accaggtgaa cactgtgggg atccccatct ga 3042

<210> 3
 <211> 2953
 <212> DNA
 25 <213> Homo sapiens

<300>
 <302> ephrin A3
 <310> NM005233

30 <400> 3

atggattgtc agctctccat cctcctcctt ctccagctgct ctgttctcga cagcttcggg 60
 gaactgatcc cgcagccttc caatgaagtc aatctactgg attcaaaaac aattcaaggg 120
 gagctgggct ggatctctta tccatcacat ggggtgggaag agatcagtgg tgtggatgaa 180
 35 cattacacac ccatcaggac ttaccagggtg tgcaatgtca tggaccacag tcaaaaacaat 240
 tggctgagaa caaactgggt ccccaggaac tcagctcaga agatttatgt ggagctcaag 300
 ttcatcttac gagactgcaa tagcattcca ttggttttag gaacttgcaa ggagacattc 360
 aacctgtact acatggagtc tgatgatgat catgggggtga aatttcgaga gcatcagttt 420
 acaaagattg acaccattgc agctgatgaa agtttctactc aaatggatct tggggaccgt 480
 40 attctgaagc tcaacactga gattagagaa gtaggtcctg tcaacaagaa gggattttat 540
 ttggcatttc aagatgttgg tgcttgtgtt gccttggtgt ctgtgagagt atacttcaaa 600
 aagtgcccat ttacagtga gaacttggct atgtttccag acacggtacc catggactcc 660
 cagtcctcgg tggaggtag aggtcttgt gtcaacaatt ctaaggagga agatcctcca 720
 aggatgtact gcagtacaga aggcgaatgg cttgtaccca ttggcaagtg ttcttgcaat 780
 45 gctggctatg aagaaagagg ttttatgtgc caagcttgtc gaccaggttt ctacaaggca 840
 ttggatggta atatgaagtg tgctaagtgc ccgcctcaca gttctactca ggaagatgg 900
 tcaatgaact gcaggtgtga gaataattac ttccgggcag acaaagacc tccatccatg 960
 gcttgtagcc gacctccatc ttcaccaaga aatgttatct ctaatatataa cgagacctca 1020
 gttatcctgg actggagttg gcccctggac acaggaggcc ggaaagatgt taccttcaac 1080
 50 atcatatgta aaaaatgtgg gtggaatata aaacagtgtg agccatgcag cccaaatgtc 1140
 cgcttcctcc ctgcagagtt tggactcacc aacaccacgg tgacagtgc agaccttctg 1200
 gcacatacta actacacctt tgagattgat gccgttaatg ggggtgtcaga gctgagctcc 1260
 ccaccaagac agtttgctgc ggtcagatc acaactaatc aggtgtctcc atcacgtgc 1320
 ctgacgatta agaaagatcg gacctccaga aatagcatct ctttgtcctg gcaagaacct 1380
 55 gaacatccta atgggatcat attggactac gaggtcaaact actatgaaaa gcaggaacaa 1440
 gaaacaagtt ataccattct gagggcaaga ggcacaaatg ttaccatcag tagcctcaag 1500
 cctgcacata ttacgtatt ccaaaccga gcccgaaacag ccgctggata tgggacgaac 1560
 agccgcaagt ttgagtttga aactagtcca gactctttct ccatctctgg tgaaagtagc 1620
 caagtggcca tgatcgccat ttcagcggca gtagcaatta ttctcctcac tgttgtcatc 1680
 60 tatgttttga ttgggaggtt ctgtggctat aagtcaaaac atggggcgaga tgaaaaaaga 1740
 cttcattttg gcaatgggca tttaaaactt ccaggtctca ggacttatgt tgaccacat 1800
 acatatgaag accctaccba agctgttcat gagtttgcca aggaattgga tgccaccaac 1860

	atatccattg	ataaagtgtg	tggagcaggt	gaatttggag	aggtgtgcag	tggctcgctta	1920
	aaacttcctt	caaaaaaaga	gatttcagtg	gccattaaaa	ccctgaaaagt	tggctacaca	1980
	gaaaagcaga	ggagagactt	cctgggagaa	gcaagcatta	tgggacagtt	tgaccacccc	2040
	aatatcattc	gactggaagg	agttgttacc	aaaagtaagc	cagttatgat	tgtcacagaa	2100
5	tacatggaga	atggttcctt	ggatagtttc	ctacgtaaac	acgatgcccc	gtttactgtc	2160
	attcagctag	tggggatgct	tcgagggata	gcatctggca	tgaagtacct	gtcagacatg	2220
	ggctatgttc	accgagacct	cgctgctcgg	aacatcttga	tcaacagtaa	cttgggtgtg	2280
	aagggtttctg	atttcggact	ttcgctgtgc	ctggaggatg	accagaagc	tgcttatata	2340
	acaagaggag	ggaagatccc	aatcagggtg	acatcaccag	aagctatagc	ctaccgcaag	2400
10	ttcacgtcag	ccagcgatgt	atggagttat	gggattgttc	tctgggaggt	gatgtcttat	2460
	ggagagagac	catactggga	gatgtccaat	caggatgtaa	ttaaagctgt	agatgagggc	2520
	tatcgactgc	caccccccat	ggactgcccc	gctgccttgt	atcagctgat	gctggactgc	2580
	tggcagaaag	acaggaacaa	cagacccaag	tttgagcaga	ttgttagtat	tctggacaag	2640
	cttatccgga	atcccggcag	cctgaagatc	atcaccagtg	cagccgcaag	gccatcaaac	2700
15	cttcttcttg	accaaagcaa	tgtggatata	tctaccttcc	gcacaacagg	tgactggctt	2760
	aatggtgtcc	ggacagcaca	ctgcaaggaa	atcttcacgg	gcgtggagta	cagttcttgt	2820
	gacacaatag	ccaagatttc	cacagatgac	atgaaaaagg	ttggtgtcac	cgtaggtggg	2880
	ccacagaaga	agatcatcag	tagcattaaa	gctctagaaa	cgcaatcaaa	gaatggccca	2940
20	gttcccgtgt	aaa					2953
	<210> 4						
	<211> 2784						
	<212> DNA						
25	<213> Homo sapiens						
	<300>						
	<302> ephrin A4						
	<310> XM002578						
30	<400> 4						
	atggatgaaa	aaaatacacc	aatccgaacc	taccaagtgt	gcaatgtgat	ggaacccagc	60
	cagaataact	ggctacgaac	tgattggatc	acccgagaag	gggctcagag	gggtgtatatt	120
	gagattaaat	tcaccttgag	ggactgcaat	agtcttcggg	gcgtcatggg	gacttgcaag	180
35	gagacgttta	acctgtacta	ctatgaatca	gacaacgaca	aagagcgttt	catcagagag	240
	aaccagtttg	tcaaaaattga	caccattgct	gctgatgaga	gcttcaccca	agtggacatt	300
	ggtgacagaa	tcattgaagct	gaacaccgag	atccgggatg	tagggccatt	aagcaaaaaa	360
	gggtttttacc	tggctttttca	ggatgtgggg	gcctgcatcg	ccctgggtatc	agtccgtgtg	420
	ttctataaaa	agtgtccact	cacagtcctc	aatctggccc	agtttcctga	caccatcaca	480
40	ggggctgata	cgtcttccct	ggtggaagtt	cgaggctcct	gtgtcaacaa	ctcagaagag	540
	aaagatgtgc	caaaaatgta	ctgtggggca	gatggtgaa	ggctgggtacc	cattggcaac	600
	tgcctatgca	acgctgggca	tgaggagcgg	agcggagaat	gccaagcttg	caaaattgga	660
	tattacaagg	ctctctccac	ggatgccacc	tgtgccaaat	gcccacccca	cagctactct	720
	gtctgggaag	gagccacctc	gtgcacctgt	gaccgaggct	ttttcagagc	tgacaacgat	780
45	gctgcctcta	tgccctgcac	ccgtccacca	tctgtccccc	tgaacttgat	ttcaaatgtc	840
	aacgagacat	ctgtgaactt	ggaatggagt	agccctcaga	atacaggtgg	ccgccaggac	900
	atttctata	atgtggtatg	caagaaatgt	ggagctgggt	accccagcaa	gtgccgacct	960
	tgtggaagtg	gggtccacta	caccccacag	cagaatggct	tgaagaccac	caaagctctc	1020
	atcactgacc	tcctagctca	taccaattac	acctttgaaa	tctgggctgt	gaatggagtg	1080
50	tccaaatata	accctaaccc	agaccaatca	gtttctgtca	ctgtgaccac	caaccaagca	1140
	gcaccatcat	ccattgcttt	ggtccaggct	aaagaagtca	caagatacag	tgtggcactg	1200
	gcttggctgg	aaccagatcg	gcccattggg	gtaatccttg	aatatgaagt	caagtattat	1260
	gagaaggatc	agaatgagcg	aagctatcgt	atagttcgga	cagctgccag	gaacacagat	1320
	atcaaaggcc	tgaaccctct	cacttccctat	gttttccacg	tgcgagccag	gacagcagct	1380
55	ggctatggag	acttcagtga	gcccttggag	gttacaacca	acacagtgcc	ttcccggatc	1440
	attggagatg	gggctaactc	cacagtcctt	ctgggtctctg	tctcgggcag	tgtgggtgctg	1500
	gtggtaattc	tattgcagc	ttttgtcatc	agccggagac	ggagtaaaata	cagtaaaagg	1560
	aaacaagaag	cggatgaaga	gaaacatttg	aatcaagggt	taagaacata	tgtggacccc	1620
	tttacgtacg	aagatcccaa	ccaagcagtg	cgagagtttg	ccaaagaaat	tgacgcaccc	1680
60	tgcattaaga	ttgaaaaagt	tataggagtg	ggtgaatttg	gtgaggtatg	cagtgggcgt	1740
	ctcaaagtgc	ctggcaagag	agagatctgt	gtggctatca	agactctgaa	agctgggtat	1800
	acagacaaac	agaggagaga	cttctctgag	gaggccagca	tcatgggaca	gtttgacctat	1860

	ccgaacatca	ttcacttggga	aggcgtgggtc	actaaatgta	aaccagtaat	gatcataaca	1920
	gagtacatgg	agaatggctc	cttggatgca	ttcctcagga	aaaatgatgg	cagatttaca	1980
	gtcatttcagc	tgggtgggcat	gcttcgtggc	attgggtctg	ggatgaagta	tttatctgat	2040
5	atgagctatg	tgcacgtgga	tctggccgca	cggaacatcc	tggatgaacag	caacttgggtc	2100
	tgcaaaagtgt	ctgatttttg	catgtcccga	gtgcttgagg	atgatccgga	agcagcttac	2160
	accaccaggg	gtggccaagat	tcctatccgg	tggactgcgc	cagaagcaat	tgcctatcgt	2220
	aaattcacat	cagcaagtga	tgtatggagc	tatggaatcg	ttatgtggga	agtgatgtcg	2280
	tacggggaga	ggccctattg	ggatatgtcc	aatcaagatg	tgattaaagc	cattgaggaa	2340
10	ggctatcggg	tacccccctc	aatggactgc	cccattgcgc	tccaccagct	gatgctagac	2400
	tgctggcaga	aggagaggag	cgacaggcct	aaatttgggc	agattgtcaa	catgttggac	2460
	aaactcatcc	gcaaccccaa	cagcttgaag	aggacaggga	cggagagctc	cagacctaac	2520
	actgccttgt	tggatccaag	ctccccgtga	ttctctgtcg	tggtatcagt	gggcgattgg	2580
	ctccaggcca	ttaaaatgga	ccggtataag	gataacttca	cagctgctgg	ttataccaca	2640
	ctagaggctg	tgggtgcacgt	gaaccaggag	gacctggcaa	gaattgggtat	cacagccatc	2700
15	acgcaccaga	ataagatttt	gagcagtgtc	caggcaatgc	gaacccaat	gcagcagatg	2760
	cacggcagaa	tggttcccgt	ctga				2784
	<210>	5					
20	<211>	2997					
	<212>	DNA					
	<213>	Homo sapiens					
	<300>						
25	<302>	ephrin A7					
	<310>	XM004485					
	<400>	5					
30	atgggtttttc	aaactcggta	cccttcatgg	attatttttat	gctacatctg	gctgctccgc	60
	tttgccacaca	caggggaggg	gcaggctgcg	aaggaagtac	tactgctgga	ttctaaagca	120
	caacaaacag	agttggagtg	gatttcctct	ccaccaatg	ggtgggaaga	aattagtggg	180
	ttggatgaga	actatacccc	gatacgaaca	taccaggtgt	gccaagtcac	ggagcccaac	240
	caaaacaact	ggctgcggac	taactggatt	tccaaaggca	atgcacaaag	gatttttgta	300
	gaattgaaat	tcaccttgag	ggattgtaac	agtcttcctg	gagtagctgg	aacttgcaag	360
35	gaaacattta	atttgtacta	ttatgaaaca	gactatgaca	ctggcaggaa	tataagagaa	420
	aacctctatg	taaaaataga	caccattgct	gcagatgaaa	gttttaccga	aggtgacctt	480
	ggtgaaagaa	agatgaagct	taacactgag	gtgagagaga	ttggaccttt	gtccaaaaag	540
	ggattctatc	ttgcctttca	ggatgtaggg	gcttgcatag	ctttggtttc	tgtcaaagtg	600
	tactacaaga	agtgcctggc	cattattgag	aacttagcta	tctttccaga	tacagtgaac	660
40	ggttcagaat	tttctctctt	agtcgagggt	cgagggacat	gtgtcagcag	tgcagaggaa	720
	gaagcggaaa	acgccccag	gatgcactgc	agtgcagaag	gagaatgggt	agtgcccttc	780
	ggaaaatgta	tctgcaaagc	aggctaccag	caaaaaggag	acacttgtga	accctgtggc	840
	cgtgggttct	acaagtcttc	ctctcaagat	cttcagtgtc	ctcgttgtcc	aactcacagt	900
	ttttctgata	aagaaggctc	ctccagatgt	gaatgtgaag	atgggtatta	cagggctcca	960
45	tctgacccac	catacgttgc	atgcacaagg	cctccatctg	caccacagaa	cctcattttc	1020
	aacatcaacc	aaaccacagt	aagtttggaa	tggagtcctc	ctgcagacaa	tgggggaaga	1080
	aacgatgtga	cctacagaat	atttgttaag	cggtgcagtt	gggagcaggg	cgaatgtgtt	1140
	ccctgtggga	gtaacattgg	atacatgccc	cagcagactg	gattagagga	taactatgtc	1200
	actgtcatgg	acctgttagc	ccacgcta	tatacttttg	aagttgaagc	tgtaaatgga	1260
50	gtttctgact	taagccgac	ccagaggctc	tttgctgctg	tcagtatcac	cactgggtcaa	1320
	gcagctccct	cgcaagtggg	tggagtaatg	aaggagagag	tactgcagcg	gagtgtcgag	1380
	ctttcctggc	aggaaccaga	gcaccccaat	ggagtcatca	cagaatatga	aatcaagtat	1440
	tacgagaaag	atcaaaggga	acggacctac	tcaacagtaa	aaaccaagtc	tacttcagcc	1500
	tccattaata	atctgaaacc	aggaacagtg	tatgttttcc	agattcgggc	ttttactgct	1560
55	gctggttatg	gaaattacag	tcccagactt	gatgttgcta	cactagagga	agctacaggt	1620
	aaaatgtttg	aagctacagc	tgtctccagt	gaacagaatc	ctgttattat	cattgtctgtg	1680
	gttgctgtag	ctgggaccat	cattttgggt	ttcatgggtc	ttggcttcat	cattggggaga	1740
	aggcactgtg	gttatagcaa	agctgaccaa	gaaggcgatg	aagagcttta	ctttcatttt	1800
	aaatttccag	gcaccaaacc	ctacattgac	cctgaaacct	atgaggacct	aaatagagct	1860
60	gtccatcaat	tcgccaagga	gctagatgcc	tcctgtatta	aaattgagcg	tgtgattggg	1920
	gcaggagaat	tcgggtgaagt	ctgcagtggc	cgtttgaaac	ttccaggga	aagagatgtt	1980
	gcagtagcca	taaaaaccct	gaaagtgggt	tacacagaaa	aacaaaggag	agactttttg	2040

5 tgtgaagcaa gcatcatggg gcagtttgac caccctaatg ttgtccattt ggaagggggt 2100
 gttacaagag ggaaaccagt catgatagta atagagttca tggaaaatgg agccctagat 2160
 gcattttctca ggaaacatga tgggcaatth acagtcattc agtttagtagg aatgctgaga 2220
 ggaattgctg ctggaatgag atatttggct gatattggat atgttcacag ggaccttgca 2280
 gctcgcaata ttcttgtcaa cagcaatctc gtttgtaaag tgtcagattt tggcctgtcc 2340
 cgagttatag aggatgatcc agaagctgtc tatacaacta ctgggtggaa aattccagta 2400
 aggtggacag caccgaagc catccagtac cggaaattca catcagccag tgatgtatgg 2460
 agctatggaa tagtcatgtg ggaagttatg tcttatggag aaagacctta ttgggacatg 2520
 tcaaatcaag atgttataaa agcaatagaa gaaggttatc gtttaccagc acccatggac 2580
 10 tggccagctg gccttcacca gctaattgtt gattgttggc aaaaggagcg tgctgaaagg 2640
 ccaaaatttg aacagatagt tgggaattcta gacaaaatga ttcgaaacc aaatagtctg 2700
 aaaactcccc tgggaacttg tagtaggcca ataagccctc ttctggatca aaacactcct 2760
 gatttcaacta ccttttgttc agttggagaa tggctacaag ctattaagat ggaaagatat 2820
 aaagataatt tcacggcagc tggctacaat tcccttgaat cagtagccag gatgactatt 2880
 15 gaggatgtga tgagtttagg gatcacactg gttggtcatc aaaagaaaat catgagcagc 2940
 attcagacta tgagagcaca aatgctacat ttacatggaa ctggcattca agtgtga 2997

<210> 6
 20 <211> 3217
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<300>
 25 <302> ephrin A8
 <310> XM001921

<400> 6
 30 ncbnscvwrh mdnctdrtnng nmstrettrst tanmymmsar chbmdrtnc tdstretgrn 60
 mstmmtanmy rmtsndhstr ycbardasna stagnbankg rahcsmdatv washtmantt 120
 hdbbrandnkb arggnbankh msanshahar tntanmycsm bmrnarnvndn tnhsansha 180
 hamrnaaccs snmvrsmnga tggccccgcg ccggggcgcg ctgccccctg cgctctgggt 240
 cgtcacggcc gcggcgcgcg cgccacctg cgtgtccgcg gcgcgcggcg aagtgaattt 300
 gctggacacg tcgaccatcc acggggactg gggctggctc acgtatccgg ctcatgggtg 360
 35 ggactccatc aacgaggtgg acgagtcctt ccagcccatc cacacgtacc aggtttgcaa 420
 cgtcatgagc cccaaccaga acaactggct gcgcacgagc tgggtcccc gagacggcg 480
 ccggcgcgctc tatgctgaga tcaagtttac cctgcgcgac tgcaacagca tgcctgggtg 540
 gctgggcacc tgcaaggaga ccttcaacct ctactacctg gagtcggacc gcgacctggg 600
 ggccagcaca caagaaagcc agttcctcaa aatcgacacc attgctggccg acgagagctt 660
 40 cacaggtgac gaccttgggtg tgcggcgctc caagctcaac acggaggtgc gcagtgtggg 720
 tccccctgag aagcgcggct tctacctggc ctccaggac ataggtgcct gcctggccat 780
 cctctctctc cgcactactc ataagaagtg ccttgccatg gtgcgcaatc tggctgcctt 840
 ctcgagggca gtgacggggg ccgactcgtc ctactgggtg gaggtgaggg gccagtgcgt 900
 gcggcactca gaggagcggg acacacccaa gatgtactgc agcgcggagg gcgagtggct 960
 45 cgtgcccacg ggcaaatgcg tgtgcagtgc cggtacgag gagcggcggg atgctgtgt 1020
 ggctgtgag ctgggcttct acaagtcagc cctggggac cagctgtgtg cccgctgccc 1080
 tccccacagc cactccgcag ctccagccgc ccaagcctgc cactgtgacc tcagctacta 1140
 ccgtgcagcc ctggacccgc cgtcctcagc ctgcacccgg ccaccctcgg caccagtga 1200
 cctgatctcc agtgtgaatg ggacatcagt gactctggag tgggccccct ccctggacc 1260
 50 aggtggcgcg agtgacatca cctacaatgc cgtgtgccc cgctgcccc gggcactgag 1320
 ccgtgcgag gcatgtggga gcggcaccg ctttgtgccc cagcagacaa gcctggtgca 1380
 ggccagcctg ctgggtggcca acctgctggc ccacatgaac tactccttct ggatcgaggc 1440
 cgtcaatggc gtgtccgacc tgagccccga gccccgcgg gccgtgtgtg tcaacatcac 1500
 cagcaaccag gcagccccgt cccaggtggt ggtgatccgt caagagcggg cggggcagac 1560
 55 cagcgtctcg ctgctgtggc aggagccga gcagccgaac ggcatcatcc tggagtatga 1620
 gatcaagtac tccgagaagg acaaggagat gcagagctac tccaccctca aggcctcac 1680
 caccagagcc accgtctccg gcctcaagcc gggcaccgc tacgtgttcc aggtccgagc 1740
 ccgcacctca gcaggctgtg gccgctcag ccaggccatg gaggtggaga ccgggaaacc 1800
 ccggccccgc tatgacacca ggaccattgt ctggatctgc ctgacgtca tcacgggctt 1860
 60 ggtggtgctt ctgctcctgc tcatctgcaa gaagaggcac tgtggctaca gcaagtcctt 1920
 ccaggactcg cagcaggaga agatgcacta tcagaatgga caggcaccct cacctgtctt 1980
 cctgcctctg catcaccccc cgggaaagct cccagagccc cagttctatg cggaaaccca 2040

	cacctacgag	gagccaggcc	gggcgggccg	cagtttctact	cgggagatcg	aggcctctag	2100
	gatccacatc	gagaaaaatca	tcggctctgg	agactccggg	gaagtctgct	acgggagggt	2160
	gcgggtgcc	gggcagcggg	atgtgcccgt	ggccatcaag	gccctcaaag	ccggctacac	2220
	ggagagacag	aggcgggact	tcttgagcga	ggcgctccatc	atggggcaat	tcgaccatcc	2280
5	caacatcatc	cgccctcgagg	gtgtcgctcac	ccgtggccgc	ctggcaatga	ttgtgactga	2340
	gtacatggag	aacggctctc	tggacacctt	cctgaggacc	cacgacgggc	agttcaccat	2400
	catgcagctg	gtgggcatgc	tgagaggagt	gggtgccggc	atgcgctacc	tctcagacct	2460
	gggctatgtc	caccgagacc	tggccgcccgc	caacgtcctg	gttgacagca	acctgggtctg	2520
	caaggtgtct	gacttcgggc	tctcacgggt	gctggaggac	gacccggatg	ctgcctacac	2580
10	caccacgggc	gggaagatcc	ccatccgctg	gacggcccca	gaggccatcg	ccttccgcac	2640
	cttctcctcg	ggcagcgacg	tgtggagctt	cggcggtggtc	atgtgggagg	tgctggccta	2700
	tggggagcgg	ccctactgga	acatgaccaa	ccgggatgtc	atcagctctg	tggaggagggg	2760
	gtaccgctcg	cccgccacca	tgggctgccc	ccacgcccctg	caccagctca	tgctcgactg	2820
	ttggcacaag	gaccggggcg	agcggcctcg	cttctcccag	attgtcagtg	tcctcgatgc	2880
15	gctcatccgc	agccctgaga	gtctcagggc	caccgccaca	gtcagcaggt	gccccacccc	2940
	tgccttcgtc	cggagctgct	ttgacctccg	agggggcagc	ggtggcggtg	ggggcctcac	3000
	cgtggggggac	tggctggact	ccatccgcat	gggcccgtac	cgagaccact	tcgctgcggg	3060
	cggatactcc	tctctgggca	tgggtgctacg	catgaacgcc	caggacgtgc	gcgccctggg	3120
	catcaccctc	atggggccacc	agaagaagat	cctgggcagc	attcagacca	tgcgggccca	3180
20	gctgaccagc	accagggggc	cccgcgggca	cctctga			3217
	<210>	7					
	<211>	1497					
25	<212>	DNA					
	<213>	Homo sapiens					
	<300>						
	<308>	U83508					
30	<300>						
	<302>	angiopoietin 2					
	<310>	U83508					
35	<400>	7					
	atgacagttt	tccttttctt	tgttttcttc	gctgccattc	tgactcacat	aggggtgcagc	60
	aatcagcgcc	gaagtccaga	aaacagtggt	agaagatata	accggattca	acatggggcaa	120
	tgtgcctaca	ctttcattct	tccagaacac	gatggcaact	gtcgtgagag	tacgacagac	180
	cagtacaaca	caaacgctct	gcagagagat	gctccacacg	tggaaccgga	tttctcttcc	240
40	cagaaaacttc	aacatctgga	acatgtgatg	gaaaattata	ctcagtggct	gcaaaaactt	300
	gagaattaca	ttgtggaaaa	catgaagtgc	gagatggccc	agatacagca	gaatgcagtt	360
	cagaaccaca	cggctaccat	gctggagata	ggaaccagcc	tcctctctca	gactgcagag	420
	cagaccagaa	agctgacaga	tgttgagacc	caggtactaa	atcaaaacttc	tcgacttgag	480
	atacagctgc	tggagaattc	attatccacc	tacaagctag	agaagcaact	tcttcaacag	540
45	acaaatgaaa	tcttgaagat	ccatgaaaaa	aacagtttat	tagaacataa	aatcttagaa	600
	atggaaggaa	aacacaagga	agagttggac	accttaaagg	aagagaaaga	gaaccttcaa	660
	ggcttgggta	ctcgtcaaac	atatataatc	caggagctgg	aaaagcaatt	aaacagagct	720
	accaccaaca	acagtgtcct	tcagaagcag	caactggagc	tgatggacac	agtcacacac	780
	cttgtcaatc	tttgacttaa	agaagggtgt	ttactaaagg	gaggaaaaag	agaggaagag	840
50	aaaccattta	gagactgtgc	agatgtatat	caagctgggt	ttaataaaaag	tggaatctac	900
	actatttata	ttaataatat	gccagaaccc	aaaagggtgt	tttgcaatat	ggatgtcaat	960
	gggggagggt	ggactgtaat	acaacatcgt	gaagatggaa	gtctagattt	ccaaagaggc	1020
	tggaagggaat	ataaaatggg	ttttggaaat	ccctccggtg	aatattgggt	gggggaatgag	1080
	tttatttttg	ccattaccag	tcagaggcag	tacatgctaa	gaattgagtt	aatggactgg	1140
55	gaaggggaacc	gagcctattc	acagtatgac	agattccaca	taggaaatga	aaagcaaac	1200
	tatagggtgt	attttaaagg	tcacactggg	acagcaggaa	aacagagcag	cctgatctta	1260
	cagggtgtctg	atttcagcac	taaagatgct	gataatgaca	actgtatgtg	caaatgtgcc	1320
	ctcatgttaa	caggaggatg	gtgggttgat	gcttgtggcc	cctccaatct	aaatgggaatg	1380
	ttctatactg	cgggacaaaa	ccatggaaaa	ctgaatggga	taaagtggca	ctacttcaaa	1440
60	gggcccagtt	actccttacg	ttccacaact	atgatgatcc	gacctttaga	tttttga	1497

<210> 8
<211> 3417
<212> DNA
<213> Homo sapiens

5
<300>
<310> XM001924

10
<300>
<302> Tiel

<400> 8
atgggtctggc ggggtgcccc tttcttgtct cccatcctct tcttggcttc tcatgtgggc 60
gcggcggttg acctgacgct gctggccaac ctgcggtca cggaccccc cgccttcttc 120
15 ctgacttgcg tgtctgggga ggccggggcg gggaggggct cggacgcctg gggcccgccc 180
ctgctgctgg agaaggacga cegtatcggt cgcacccgc ccggggccacc cctgcgcctg 240
gcgcgcaacg gttcgacca ggtcacgctt cgcggcttct ccaagccctc ggacctcgtg 300
ggcgtcttct cctgcgtggg cgtgctggg gcgcggcgca cgcgcgtcat ctacgtgcac 360
aacagccctg gagccacact gcttccagac aaggtcacac acactgtgaa caaagggtgac 420
20 accgctgtac tttctgcacg tgtgcacaag gagaagcaga cagacgtgat ctggaagagc 480
aacggatcct acttctacac cctggactgg catgaagccc aggatgggag gttcctgctg 540
cagctcccaa atgtgcagcc accatcgagc ggcattctaca gtgccactta cctggaagcc 600
agccccctgg gcagcgcctt ctttcggctc atcgtgcggg gttgtggggc tgggcgctgg 660
gggcccaggct gtaccaagga gtgcccagg tgcctacatg gaggtgtctg ccacgacct 720
25 gacggcgaat gtgtatgccc ccctggcttc actggcacc gctgtgaaca ggccctgcaga 780
gagggccggt ttgggcagag ctgcccagg cactgcccag gcataacagg ctgccggggc 840
ctcaccttct gcctcccaga ccctatggc tgccttctgt gatctggctg gagaggaagc 900
cagtgcgaag aagcttgtgc cctgggtcat tttggggctg attgccgact ccagtgccag 960
tgtcagaatg gtggcacttg tgaccgggtc agtgggtgtg tctgccccctc tgggtggcat 1020
30 ggagtgcact gtgagaagtc agaccggatc cccagatcc tcaacatggc ctccagaactg 1080
gaggttcaact tagagacgat gccccggatc aactgtgcag ctgcagggaa ccccttcccc 1140
gtgcggggca gcatagagct acgcaagcca gacggcactg tgctcctgtc caccaaggcc 1200
attgtggagc cagagaagac cacagctgag ttcgagggtg cccgcttggt tcttgcggac 1260
agtgggttct gggagtgccg tgtgtccaca tctggcgcc aagacagccg gcgcttcaag 1320
35 gtcaatgtga aagtgtcccc cgtgccccctg gctgcacctc ggctcctgac caagcagagc 1380
gcccagcttg tgggtctccc gctggtctcg ttctctgggg atggacccat ctccactgtc 1440
cgctgcact accggcccc ggacagtacc atggactggt cgaccattgt ggtggacccc 1500
agtgagaacg tgacgttaat gaacctgagg ccaagacag gatacagtgt tctgtgtcag 1560
ctgagccggc caggggaagg aggagagggg gcctgggggc ctcccacct catgaccaca 1620
40 gactgtcctg agccttctgt gcagccgttg ttggagggct ggcattgtga aggcactgac 1680
cggtctgcag tgatctgggt cttgcccttg gtgcccgggc cactggtggg cgacggttct 1740
ctgctgcgcc tgtgggacgg gacacggggg caggagcggc gggagaacgt ctcatcccc 1800
caggcccgcg ctgcccctct gacgggactc acgcctggca cccactacca gctggatgtg 1860
cagctctacc actgcacctt cctgggcccc gcctcgcccc ctgcacacgt gcttctgccc 1920
45 cccagtgggc ctccagcccc ccgacacctc cacgcccagg ccctctcaga ctccgagatc 1980
cagctgacat ggaagcacc ccgaggtctg cctggggcaa tatccaagta cgttgtggag 2040
gtgcaggtgg tgggggtgct agggagacca ctgtggatag acgtggacag gcctgaggag 2100
acaagcacca tcatccgtgg cctcaacgcc agcacgcgtt acctcttccg catgcggggc 2160
50 agcattcagg ggctcgggga ctggagcaac acagttagaag agtccacctt gggcaacggg 2220
ctgcaggctg agggcccagt ccaagagagc cgggcagctg aagagggcct ggatcagcag 2280
ctgatcctgg cgttgggtgg ctccgtgtct gccacctgcc tcaccatcct ggctgccctt 2340
ttaaccctgg tgtgcatccg cagaagctgc ctgcatcgga gacgcacctt cacctaccag 2400
tcaggctcgg gcgaggagac catcctgcag ttccagctcag ggaccttgac acttaccggg 2460
cggccaaaac tgagcccgga gccctgagc taccagtgct tagagtggga ggacatcacc 2520
55 tttgaggacc tcatcgggga ggggaacttc ggcaggttca tccggggcat gatcaagaag 2580
gacgggctga agatgaacgc agccatcaaa agtctgaaag agtatgcctc tgaaaatgac 2640
catcgtgact ttgcgggaga actggaagtt ctgtgcaaat tggggcatca ccccaacatc 2700
atcaacctcc tgggggcctg taagaaccga ggttacttgt atatcgctat tgaatatgcc 2760
cctacggga acctgctaga tttctgcgg aaaagccggg tcctagagac tgaccagct 2820
60 tttgtctcag agcatgggac agcctctacc cttagctccc ggcagctgct gcgtttctgc 2880
agtgtgcgg ccaatggcat gcagtacct agtgagaagc agttcatcca cagggtctg 2940
gctgcccga atgtgtggt cggagagaac ctggcctcca agattgcaga cttcggcctt 3000

5 tctcggggag aggaggttta tgtgaagaag acgatggggc gtctccctgt gcgctggatg 3060
 gccattgagt ccctgaacta cagtgtctat accaccaaga gtgatgtctg gtccttttga 3120
 gtctctcttt gggagatagt gagccttgga ggtacaccct actgtggcat gacctgtgcc 3180
 gagctctatg aaaagctgcc ccagggctac cgcattggagc agcctcgaaa ctgtgacgat 3240
 gaagtgtacg agctgatgcg tcagtgtctg cgggaccgtc cctatgagcg accccctttt 3300
 gccagattg cgctacagct aggcgcgatg ctggaagcca ggaaggccta tgtgaacatg 3360
 tcgctgtttg agaacttcac ttacgcgggc attgatgcca cagctgagga ggcttga 3417

10 <210> 9
 <211> 3375
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

15 <300>
 <302> TEK
 <310> L06139

20 <400> 9
 atggactctt tagccagctt agttctctgt ggagtcagct tgctcccttc tggaaactgtg 60
 gaaggtgcc aaggacttgat cttgatcaat tccctacctc ttgtatctga tgctgaaaca 120
 tctctcacct gcattgcctc tgggtggcgc ccccatgagc ccatcaccat aggaaggac 180
 tttgaagcct taatgaacca gcaccaggat ccgctggaag ttactcaaga tgtgaccaga 240
 gaattgggcta aaaaagtgtt ttggaagaga gaaaaggcta gtaagatcaa tgggtgcttat 300
 25 ttctgtgaag ggcgagttcg aggagaggca atcaggatac gaaccatgaa gatgcgtcaa 360
 caagcttctc tcctaccagc tactttaact atgactgtgg acaagggaga taacgtgaac 420
 atatctttca aaaaggattt gattaaagaa gaagatgcag tgatttacia aaatggttcc 480
 ttcatccatt cagtgcctcg gcatgaagta cctgatattc tagaagtaca cctgcctcat 540
 gctcagcccc aggatgctgg agtgactctg gccagggtata taggaggaaa cctcttcacc 600
 30 tcggccttca ccaggctgat agtccggaga tgtgaagccc agaagtgggg acctgaatgc 660
 aaccatctct gtactgcttg tatgaacaat ggtgtctgcc atgaagatac tggagaatgc 720
 atttgccctc ctgggtttat gggaaggacg tgtgagaagg cttgtgaact gcacacgttt 780
 ggcagaactt gtaagaaaag gtgcagtgg caagaggat gcaagtctta tgtgttctgt 840
 ctccctgacc cctatgggtg ttctgtgccc acaggctgga agggctctga gtgcaatgaa 900
 35 gcatgccacc ctgggtttta cgggcccagat tgbtaagctta ggtgcagctg caacaatggg 960
 gagatgtgtg atcgcttcca aggatgtctc tgctctccag gatggcagg gctccagtgt 1020
 gagagagaag gcataccgag gatgaccca aagatagtgg atttgccaga tcatatagaa 1080
 gtaaacagtg gtaaatttaa tcccatattg aagcttctg gctggccgct acctactaat 1140
 gaagaaatga ccctgggtga gccggatggg acagtgtctc atccaaaaga cttaaccat 1200
 40 acggatcatt tctcagtagc catattcacc atccaccgga tctcccccc tgactcagga 1260
 gtttggttct gcagtgtgaa cacagtggct gggatgggtg aaaagccctt caacatttct 1320
 gttaaagttc ttccaaagcc cctgaatgcc ccaaacgtga ttgacactgg acataacttt 1380
 gctgtctatc acatcagctc tgagccttac ttgggggatg gaccaatcaa atccaaag 1440
 45 cttctataca aaccggttaa tcactatgag gcttggcaac atattcaagt gacaaatgag 1500
 attgttacac tcaactatth ggaacctcgg acagaatatg aactctgtgt gcaactggtc 1560
 cgctgtggag aggggtggga agggcatcct ggacctgtga gacgttctac aacagcttct 1620
 atcgactccc ctctccaag aggtctaat ctctgccta aaagtcagac cactctaat 1680
 ttgacctggc aaccaatatt tccaagctcg gaagatgact tttatgttga agtggagaga 1740
 aggtctgtgc aaaaaagtga tcagcagaat attaaagttc caggcaactt gacttcggtg 1800
 50 ctacttaaca acttacatcc cagggagcag tacgtgggtc gagctagagt caacaccaag 1860
 gccagggggg aatggagtga agatctcact gcttggaccc ttagtgacat tcttctctct 1920
 caaccagaaa acatcaagat ttccaacatt acacactcct cggctgtgat ttcttgaca 1980
 atattgtgtg gctattctat ttcttctatt actatccgtt acaagggtca aggcaagaat 2040
 55 gaagaccagc acgttgatgt gaagataaag aatgccacca tcattcagta tcagctcaag 2100
 ggcctagagc ctgaaacagc ataccaggtg gacatttttg cagagaacaa cataggttca 2160
 agcaaccagg ccttttctca tgaactgggtg accctcccag aatctcaagc accagcggag 2220
 ctggaggggg ggaagatgct gcttatagcc atccttggtc ctgctggaat gacctgctg 2280
 actgtgctgt tggcctttct gatcatattg caattgaaga gggcaaatgt gcaagggaga 2340
 atggcccaag ccttccaaaa cgtgagggaa gaaccagctg tgcagttcaa ctgagggact 2400
 60 ctggccctaa acaggaaggt caaaaacaac ccagatccta caatttatcc agtgcttgac 2460
 tggaatgaca tcaaatthca agatgtgatt ggggagggca attttggcca agttcttaag 2520
 gcgcgcacatc agaaggatgg gttacggatg gatgctgcca tcaaaagaat gaaagaatat 2580

```

5      gcctccaaag atgatacacag ggactttgca ggagaactgg aagttctttg taaacttggg 2640
      caccatccaa acatcatcaa tctcttagga gcatgtgaac atcgaggcta cttgtacctg 2700
      gccattgagt acgcgccccca tggaaacctt ctggacttcc ttcgcaagag ccgtgtgctg 2760
      gagacggacc cagcattttgc catttgccaat agcaccgcgt ccacactgtc ctcccagcag 2820
      ctccttcact tcgctgcccga cgtggcccgg ggcattggact acttgagcca aaaacagttt 2880
      atccacaggg atctggctgc cagaaacatt ttagttgggtg aaaactatgt ggcaaaaata 2940
      gcagattttg gattgtcccg aggtcaagag gtgtacgtga aaaagacaat ggggaaggctc 3000
      ccagtgcgct ggatggccat cgagtcactg aattacagtg tgtacacaac caacagtgat 3060
      gtatggctct atgggtgtgtt actatgggag attgttagct taggaggcac accctactgc 3120
10     gggatgactt gtgcagaact ctacgagaag ctgccccagg gctacagact ggagaagccc 3180
      ctgaactgtg atgatgaggt gtatgatcta atgagacaat gctggcggga gaagccttat 3240
      gagaggccat catttgccca gatattgggt tccttaaaaca gaatgttaga ggagcgaaag 3300
      acctacgtga ataccacgct ttatgagaag tttacttatg caggaattga ctgttctgct 3360
      gaagaagcgg cctag                                     3375

15     <210> 10
      <211> 2409
      <212> DNA
20     <213> Homo sapiens

      <300>

      <300>
25     <302> beta5 integrin
      <310> X53002

      <400> 10
30     ncbsncvwr tgcgcggggc cccggcgccg ctgtacgcct gcctcctggg gctctgcgcg 60
      ctectgcccc ggctcgcagg tctcaacata tgacttagtg gaagtgccac ctcatgtgaa 120
      gaatgtctgc taatccaccc aaaatgtgcc tggtgtctca aagaggactt cggaagccca 180
      cggctccatca cctctcggtg tgatctgagg gcaaaccttg tcaaaaatgg ctgtggagg 240
      gagatagaga gcccgaccag cagcttccat gtcttgagga gcctgccccct cagcagcaag 300
      gggttcgggct ctgcaggctg ggacgtcatt cagatgacac cacaggagat tgccgtgaac 360
35     ctccggccccg gtgacaagac caccttccag ctacagggttc gccagggtgga ggactatcct 420
      ttggacctgt actacctgat ggacctctcc ctgtccatga aggatgactt ggacaatatc 480
      cggagcctgg gcaccaaact cgcggaggag atgaggaagc tcaccagcaa cttccggttg 540
      ggatttgggt cttttgttga taaggacatc tctcctttct cctacacggc accgaggtag 600
      cagaccaatc cgtgcattgg ttacaagttg tttccaaatt gcgtccccct ctttgggttc 660
40     cgccatctgc tgctctcac agacagagtg gacagcttca atgaggaagt tcggaacacag 720
      aggggtgtccc ggaaccgaga tgcccctgag gggggctttg atgcagtact ccaggcagcc 780
      gtctgcaagg agaagattgg ctggcgaaag atgtcactgc atttgctggt gttcacaca 840
      gatgatgtgc ccacatcgc atttgatgga aaattgggag gcctggtgca gccacacgat 900
      ggccagtgcc acctgaacga ggccaacgag tacacagcat ccaaccagat ggactatcca 960
45     tcccttgcc tgcctggaga gaaattggca gagaacaaca tcaacctcat ctttgacagt 1020
      acaaaaaacc attatatgct gtacaagaat ttacagccc tgatacctgg aacaacggtg 1080
      gagattttag atggagactc caaaaatatt attcaactga ttattaatgc atacaatag 1140
      atccggtcta aagtggagtt gtcagtctgg gatcagcctg aggatcttaa tctcttcttt 1200
      actgctacct gccaaagtgg ggtatcctat cctggtcaga ggaagtgtga gggctctgaag 1260
50     attggggaca cggcatcttt tgaagtatca ttggaggccc gaagctgtcc cagcagacac 1320
      acggagcatg tgtttgccct gcggcgggtg ggattccggg acagcctgga ggtgggggtc 1380
      acctacaact gcactgctg ctgcagcgtg gggctgggaa ccaacagcgc caggtgccat 1440
      gggagcggga cctatgtctg cggcctgtgt gagtgcagcc ccggctacct gggcaccagg 1500
      tgcgagtgcc aggatgggga gaaccagagc gtgtaccaga acctgtgccg ggaggcagag 1560
55     ggcaagccac tgtgcagcgg gcgtggggac tgcagctgca accagtgtct ctgcttcgag 1620
      agcgagtttg gcaagatcta tgggcctttc tgtgagtgcg acaacttctc ctgtgccagg 1680
      aacaagggag tcctctgctc aggcattggc gagtgtcact gcgggggaatg caagtgccat 1740
      gcaggttaca tcggggacaa ctgtaactgc tcgacagaca tcagcacatg ccggggcaga 1800
      gatggccaga tctgcagcga gcgtgggcac tgtctctgtg ggcagtgcc atgcacggag 1860
60     ccgggggccc ttggggagat gtgtgagaag tgccccacct gcccgatgc atgcagcacc 1920
      aagagagatt gcgtcgagt cctgtctctc cactctggga aacctgacaa ccagacctgc 1980
      cacagcctat gcagggatga ggtgatcaca tgggtggaca ccatcgtaga agatgaccag 2040

```

		gagcgtgtgc	tatgttttcta	caaaacccgc	aaggactgcg	tcatgatgtt	cacctatgtg	2100
		gagctcccca	gtgggaagtc	caacctgacc	gtcctcaggg	agccagagtg	tggaaacacc	2160
		cccaacgcca	tgaccatcct	cctggctgtg	gtcggtagca	tctccttgt	tgggcttgca	2220
		ctcctggcta	tctggaagct	gcttgtcacc	atccacgacc	ggagggagtt	tgcaaagt	2280
5		cgagcgcgagc	gatccagggc	ccgctatgaa	atggcttcaa	atccattata	cagaaagcct	2340
		atctccacgc	acactgtgga	cttcaccttc	aacaagttca	acaaatccta	caatggcact	2400
		gtggactga						2409
10	<210>	11						
	<211>	2367						
	<212>	DNA						
	<213>	Homo sapiens						
15	<300>							
	<302>	beta3 integrin						
	<310>	NM000212						
	<400>	11						
20		atgcgagcgc	ggccgcggcc	ccggccgctc	tgggcgactg	tgtctggcgt	gggggcgctg	60
		gcggggcgtg	gcgtaggagg	gccccacatc	tgtaccacgc	gaggtgtgag	ctcctgccag	120
		cagtgccttg	ctgtgagccc	catgtgtgcc	tgtgtgctctg	atgaggccct	gcctctgggc	180
		tcacctcgct	gtgacctgaa	ggagaatctg	ctgaaggata	actgtgcccc	agaatccatc	240
		gagttcccag	tgagtgaggc	ccgagtaacta	gaggacaggc	ccctcagcga	caagggctct	300
25		ggagacagct	cccaggctcac	tcaagtcagt	cccagaggga	ttgcaactccg	gctccggcca	360
		gattgattcga	agaattttctc	catccaagtg	cggcagggtg	aggattaccc	tgtggacatc	420
		tactacttga	tggacctgtc	ttactccatg	aaggatgac	tgtggagcat	ccagaacctg	480
		ggtaccaagc	tggccaccca	gatgcgaaag	ctcaccagta	acctgcggat	tggcttcggg	540
		gcattttgtg	acaagcctgt	gtcaccatac	atgtatatct	ccccaccaga	ggccctcgaa	600
30		aacccctgct	atgatatgaa	gaccacctgc	ttgcccattgt	ttggctacaa	acacgtgctg	660
		acgctaactg	accagggtgac	ccgcttcaat	gaggaagtga	agaagcagag	tgtgtcacgg	720
		aaccgagatg	ccccagagg	tggctttgat	gccatcatgc	aggctacagt	ctgtgatgaa	780
		aagattggct	ggaggaatga	tgcataccac	ttgctgggtg	ttaccactga	tgccaagact	840
		catatagcat	tggacggaag	gctggcaggc	attgtccagc	ctaattgacgg	gcagtgtcat	900
35		gttggtagtg	acaatcatta	ctctgcctcc	actaccatgg	attatccctc	tttggggctg	960
		atgactgaga	agctatccca	gaaaaacatc	aatttgatct	ttgcagtgc	tgaaaatgta	1020
		tcaatctct	atcagaacta	tagtgagctc	atcccaggga	ccacagttgg	ggttctgtcc	1080
		atggattcca	gcaatgtcct	ccagctcatt	gttgatgctt	atgggaaaaa	ccgttctaaa	1140
		gtagagctgg	aagtgcgtga	cctccctgaa	gagttgtctc	tatccttcaa	tgccacctgc	1200
40		ctcaacaatg	aggatcatccc	tggcctcaag	tcttgtatgg	gactcaagat	tggagacacg	1260
		gtgagcttca	gcattgaggc	caagggtgca	ggctgtcccc	aggagaagga	gaagtccctt	1320
		accataaagc	ccgtgggctt	caaggacagc	ctgatcgtcc	aggtcacctt	tgattgtgac	1380
		tgtgcctgcc	aggcccaagc	tgaacctaat	agccatcgct	gcaacaatgg	caatgggacc	1440
		tttgagtgtg	gggtatgccg	ttgtgggctt	ggctggctgg	gatcccagtg	tgagtgtctc	1500
45		gaggaggact	atcgcccttc	ccagcaggac	gaatgcagcc	cccgggaggg	tcagcccgtc	1560
		tgcagccagg	ggggcgagtg	cctctgtggt	caatgtgtct	gccacagcag	tgactttggc	1620
		aagatcacgc	gcaagtactg	cgagtgtgac	gacttctcct	gtgtccgcta	caagggggag	1680
		atgtgctcag	gccatggcca	gtgcagctgc	ggggactgcc	tgtgtgactc	cgactggacc	1740
		ggctactact	gcaactgtac	cacgcgtact	gacacctgca	tgtccagcaa	tgggctgctg	1800
50		tgcagcggcc	gcggcaagtg	tgaatgtggc	agctgtgtct	gtatccagcc	gggctcctat	1860
		ggggacacct	gtgagaagtg	ccccacctgc	ccagatgcct	gcacctttaa	gaaagaatgt	1920
		gtggagtgta	agaagtttga	ccgggagccc	tacatgcagg	aaaataacctg	caaccgttac	1980
		tggcgtgacg	agattgagtc	agtgaagag	cttaaggaca	ctggcaagga	tgcatggaat	2040
		tgtacctata	agaatgagga	tgactgtgtc	gtcagattcc	agtactatga	agattctagt	2100
55		ggaaagtcca	tctgttatgt	ggtagaagag	ccagagtgtc	ccaagggccc	tgacatcctg	2160
		gtggtcctgc	tctcagtgat	gggggccatt	ctgctcattg	gccttggcgc	cctgtctatc	2220
		tggaaatctc	tccatccat	ccagcaccga	aaagaattcg	ctaaatttga	ggaagaagc	2280

<211> 3147
<212> DNA
<213> Homo sapiens

5 <300>
<302> alpha v intergrin
<310> NM0022210

<400> 12
10 atggccttttc cgccgcggcg acggctgcgc ctcgggtccc gcggcctccc gcttctttctc 60
tcgggactcc tgctacctct gtgccgcgcc ttcaacctag acgtggacag tcctgccgag 120
tactctggcc ccgaggaag ttacttcggc ttccgcgtgg atttcttcgt gccagcgcg 180
tcttcccggg tgtttcttct cgtgggagct cccaaagcaa acaccaccca gcctgggatt 240
gtggaaggag ggcaggctct caaatgtgac tggctcttcta ccgcgcggtg ccagccaatt 300
15 gaatttgatg caacaggcaa tagagattat gccaaaggatg atccattgga atttaagtcc 360
catcagtggt ttggagcatt tgtgaggctg aaacaggata aaattttggc ctgtgcccc 420
ttgtaccatt ggagaactga gatgaaacag gagcgagagc ctgttggaac atgctttctt 480
caagatggaa caaagactgt tgagtatgct ccatgtagat cacaagatat tgatgctgat 540
ggacagggat tttgtcaagg aggattcagc attgatttta ctaaagctga cagagtactt 600
20 cttgggtggc ctggtagctt ttattggcaa ggtcagctta ttccggatca agtggcagaa 660
atcgatatcta aatacgaccc caatgtttac agcatcaagt ataataacca attagcaact 720
cggactgcac aagctatttt tgatgacagc tatttgggtt attctgtggc tgtcggagat 780
ttcaatggtg atggcataga tgactttggt tcaggagttc caagagcagc aaggactttg 840
ggaatgggtt atatttatga tgggaagaac atgtcctcct tatacaattt tactggcgag 900
25 cagatggctg catatttcgg attttctgta gctgccactg acattaatgg agatgattat 960
gcagatgtgt ttattggagc acctctcttc atggatcgtg gctctgatgg caaactccaa 1020
gaggtggggc aggtctcagt gtctctacag agagcttcag gagacttcca gacgacaaag 1080
ctgaatggat ttgaggtctt tgcacggttt ggcagtgcc tagctccttt gggagatctg 1140
gaccaggatg gtttcaatga tattgcaatt gctgctccat atgggggtga agataaaaaa 1200
30 ggaattgttt atatcttcaa tggaaagatca acaggcttga acgcagctcc atctcaaata 1260
cttgaagggc cttgggctgc tcgaagcatg ccaccaagct ttggctattc aatgaaagga 1320
gccacagata tagacaaaaa tggatatcca gacttaattg taggagcttt tgggtgtagat 1380
cgagctatct tatacagggc cagaccagtt atcactgtaa atgctggtct tgaagtgtac 1440
cctagcattt taaatcaaga caataaaacc tgctcactgc ctggaacagc tctcaaagtt 1500
35 tcctgtttta atgttaggtt ctgcttaaaag gcagatggca aaggagtact tcccaggaaa 1560
cttaatttcc aggtggaact tcttttggat aaactcaagc aaaagggagc aattcgcaga 1620
gcaactgttt tctacagcag gtccccaagt cactccaaga acatgactat ttcaaggggg 1680
ggactgatgc agtgtgagga attgatagcg tatctgcggg atgaatctga atttagagac 1740
aaactcactc caattactat ttttatggaa tatcgggttg attatagaac agctgctgat 1800
40 acaacaggct tgcaaccat cttaaccag ttacgcctg ctaacattag tcgacaggct 1860
cacattctac ttgactgtgg tgaagacaat gttctgtaac ccaagctgga agtttctgta 1920
gatagtgate aaaagaagat ctatatggg gatgacaacc ctctgacatt gattgttaag 1980
gctcagaatc aaggagaagg tgcctacgaa gctgagctca tcgtttccat tccactgcag 2040
gctgatttca tcggggttgt ccgaaacaat gaagccttag caagactttc ctgtgcattt 2100
45 aagacagaaa accaaactcg ccagggtgta tgtgacctg gaaacccaat gaaggctgga 2160
actcaactct tagctggtct tcgtttcagt gtgcaccagc agtcagagat ggatacttct 2220
gtgaaatttg acttacaat ccaaagctca aatctatttg acaaagtaag ccagttgta 2280
tctcacaag ttgatcttgc tgttttagct gcagttgaga taagaggagt ctcgagtcct 2340
gatcatatct ttcttccgat tccaaactgg gagcacaagg agaaccctga gactgaagaa 2400
50 gatgttgggc cagttgttca gcacatctat gagctgagaa acaatgggtc aagttcattc 2460
agcaaggcaa tgctccatct tcagtggcct tacaatatata ataataacac tctgtgtgat 2520
atccttcatt ttgatattga tggaccaatg aactgcactt cagatatgga gatcaaccct 2580
ttgagaatta agatctcatc tttgcaaaa actgaaaaga atgacacggt tgcggggcaa 2640
ggtgagcggg accatctcat cactaagcgg gatcttgccc tcagtgaagg agatattcac 2700
55 actttgggtt gtggagtgc tcagtgttg aagattgtct gccaaagtgg gagattagac 2760
agaggaaaag gtgcaatctt gtactgtaag tcattactgt ggactgagac ttttatgaat 2820
aaagaaaatc agaatcttcc ctattctctg aagtcgtctg cttcatttaa tgtcatagag 2880
tttcttata agaatcttcc aattgaggat atcaccaact ccacattggg taccactaat 2940
gtcacctggg gcattcagcc agcgcctatg cctgtgcctg tgtgggtgat ctttttagca 3000
60 gttctagcag gattgttgct actggctgtt ttggtatttg taatgtacag gatgggctt 3060
tttaaacggg tccggccacc tcaagaaaga caagaaaggg agcagcttca acctcatgaa 3120
aatggtgaag gaaactcaga aacttaa 3147

```

5      <210> 13
      <211> 402
      <212> DNA
      <213> Homo sapiens

      <300>
      <302> CaSm (cancer associated SM-like oncogene)
10     <310> AF000177

      <400> 13
      atgaactata tgcctggcac cgccagcctc atcgaggaca ttgacaaaaa gcacttgggtt 60
      ctgcttcgag atggaaggac acttataggc tttttaagaa gcattgatca atttgcaaac 120
15     ttagtgtctac atcagactgt ggagcgtatt catgtgggca aaaaatacgg tgatattcct 180
      cgagggattt ttgtggtcag aggagaaaaat gtggtcctac taggagaaat agacttggaa 240
      aaggagagtg acacaccctt ccagcaagta tccattgaag aaattctaga agaacaaagg 300
      gtggaacagc agaccaagct ggaagcagag aagttgaaag tgcaggccct gaaggaccga 360
      ggtctttcca ttctctgagc agatactctt gatgagtact aa 402

20

      <210> 14
      <211> 1923
      <212> DNA
25     <213> Homo sapiens

      <300>
      <302> c-myb
      <310> NM005375
30

      <400> 14
      atggccccgaa gacccccggca cagcatatat agcagtgacg aggatgatga ggactttgag 60
      atgtgtgacc atgactatga tgggctgctt cccaagtctg gaaagcgtca cttggggaaa 120
      acaaggtgga cccgggaaga ggatgaaaaa ctgaagaagc tgggtggaaca gaatggaaca 180
35     gatgactgga aagttattgc caattatctc ccgaatcgaa cagatgtgca gtgccagcac 240
      cgatggcaga aagtactaaa ccctgagctc atcaagggtc cttggaccaa agaagaagat 300
      cagagagtga tagagcttgt acagaaatac ggtccgaaac gttggtctgt tattgccaag 360
      cacttaaagg ggagaattgg aaaacaatgt agggagaggt ggcataacca cttgaatcca 420
      gaagttaaga aaacctcctg gacagaagag gaagacagaa ttattttacca ggacacaaag 480
40     agactgggga acagatgggc agaaatcgca aagctactgc ctggacgaac tgataatgct 540
      atcaagaacc actggaattc tacaatgcgt cggaagggtc aacaggaagg ttatctgcag 600
      gagtcttcaa aagccagcca gccagcagtg gccacaagct tccagaagaa cagtcatttg 660
      atgggttttg ctcaggctcc gcctacagct caactccctg ccactggcca gccactgtt 720
      aacaacgact attcctatta ccacatttct gaagcacaaa atgtctccag tcatgttcca 780
45     taccctgtag cgttacatgt aaatatagtc aatgtccctc agccagctgc cgcagccatt 840
      cagagacact ataatgatga agaccctgag aaggaaaaagc gaataaagga attagaattg 900
      ctctaatgt caaccgagaa tgagctaaaa ggacagcagg tgctaccaac acagaaccac 960
      acatgcagct accccgggtg gcacagcacc accattgccg accacaccag acctcatgga 1020
      gacagtgcac ctgtttcctg tttgggagaa caccactcca ctccatctct gccagcggat 1080
50     cctggctccc tacctgaaga aagcgctcgc ccagcaaggt gcatgatcgt ccaccagggc 1140
      accattctgg ataatgttaa gaacctctta gaatttgca gaaactctca atttatagat 1200
      tctttcttaa acacttccag taaccatgaa aactcagact tggaaatgcc ttctttaact 1260
      tccaccccc tcattggtca caaattgact gttacaacac catttcatag agaccagact 1320
      gtgaaaactc aaaaggaaaa tactgttttt agaacccccg ctatcaaaaag gtcaatctta 1380
55     gaaagctctc caagaactcc tacaccattc aaacatgcac ttgcagctca agaaattaaa 1440
      tacggtcccc tgaagatgct acctcagaca cctctcctc tagtagaaga tctgcaggat 1500
      gtgatcaaac aggaatctga tgaatctgga tttgttgctg agtttcaaga aaatggacca 1560
      cccttactga agaaaatcaa acaagaggtg gaattctcaa ctgataaatc aggaaacttc 1620
      ttctgtctcac accactggga aggggacagt ctgaataccc aactgttcac gcagacctcg 1680
60     cctgtgagag atgcaccgaa tattcttaca agctccggtt taatggcacc agcatcagaa 1740
      gatgaagaca atgtttctcaa agcattttaca gtacctaaaa acaggtccct ggcgagcccc 1800
      ttgcagcctt gtagcagtac ctgggaacct gcatcctgtg gaaagatgga ggagcagatg 1860

```

```

acatctttcca gtcaagctcg taaatacgtg aatgcattct cagcccgac gctggtcattg 1920
tga 1923

5  <210> 15
   <211> 544
   <212> DNA
   <213> Homo sapiens

10 <300>
   <302> c-myc
   <310> J00120

   <400> 15
15 gacccccgag ctgtgctgct cgcggccgcc accgcccggc cccggccgct cctggctccc 60
   ctctgcctc gagaaggcca gggctttctc gaggcttggc gggaaaaaga acggagggag 120
   ggatcgcgct gagtataaaa gccggttttc ggggctttat ctaactcgct gtagtaattc 180
   cagcgagagg cagagggagc gagcgggcgg ccggctaggg tggagagacc gggcgagcag 240
   agctgcgctg cgggcgctcct gggaaggagg atccggagcg aatagggggc ttcgcctctg 300
20 gcccagccct cccgctgac cccagccag cggcccgcaa cccttgccgc atccacgaaa 360
   ctttgcccat agcagcgggc gggcactttg cactggaact tacaacaccc gagcaaggac 420
   gcgactctcc cgacgcgggg aggcatttct gcccatattg ggacacttcc ccgccgctgc 480
   caggaccgcg ttctctgaaa ggctctcctt gcagctgctt agacgctgga tttttttcgg 540
   gtag 544

25 <210> 16
   <211> 618
   <212> DNA
30 <213> Homo sapiens

   <300>
   <302> ephrin-A1
   <310> NM004428

35 <400> 16
   atggagttcc tctgggcccc tctcttgggt ctgtgctgca gtctggccgc tgctgatcgc 60
   cacaccgtct tctggaacag ttcaaattcc aagttccgga atgaggacta caccatacat 120
   gtgcagctga atgactacgt ggacatcatc tgtccgcact atgaagatca ctctgtggca 180
40 gacgctgcc aaggagcagta catactgtac ctggtggagc atgaggagta ccagctgtgc 240
   cagccccagt ccaaggacca agtcgctgg cagtgcaccc ggcccagtg ccaagcatggc 300
   ccggagaagc tgtctgagaa gttccagcgc ttcacacctt tcacctggg caaggagtgc 360
   aaagaaggac acagctacta ctacatctcc aaacctatcc accagcatga agaccgctgc 420
   ttgagggtga agtgactgt cagtggcaaa atcactcaca gtcctcaggc ccatgtcaat 480
45 ccacaggaga agagacttgc agcagatgac ccagaggtgc gggttctaca tagcatcggt 540
   cacagtgtc cccacgcct cttcccactt gcctggactg tgctgctcct tccacttctg 600
   ctgctgcaaa ccccgtag 618

50 <210> 17
   <211> 642
   <212> DNA
   <213> Homo sapiens

55 <400> 17
   atggcgcccc cgcagcgccc gctgctcccc ctgctgctcc tgctgttacc gctgccgccc 60
   ccgccccttc cgcgcgcgca ggacgcccgc cgcgccaact cggaccgcta cgcgctctac 120
   tggaaaccga gcaaccccag gttccacgca ggcgcggggg acgacggcgg gggctacacg 180
   gtggagggtga gcatcaatga ctacctggac atctactgcc cgactatgg ggcgcgctg 240
60 ccgccggccc agcgcagatga gcactacgtg ctgtacatgg tcaacggcga gggccacgcc 300
   tcctgcgacc accgccagcg cggcttcaag cgctgggagt gcaaccggcc cgcggcgccc 360
   ggggggcccc tcaagttctc ggagaagttc cagctcttca cgcccttctc cctgggcttc 420

```

```

gagttccggc cgggccacga gtattactac atctctgcc a cgcctcccaa tgctgtggac 480
gggccctgcc tgcgactgaa ggtgtacgtg cggccgacca acgagaccct gtacgaggct 540
cctgagccca tcttcaccag caataactcg tgtagcagcc cgggcggctg ccgcctcttc 600
ctcagcacca tccccgtgct ctggaccctc ctgggttcct ag 642
5

<210> 18
<211> 717
<212> DNA
10 <213> Homo sapiens

<300>
<302> ephrin-A3
<310> XM001787
15

<400> 18
atggcggcgg ctccgctgct gctgctgctg ctgctcgtgc ccgtgccgct gctgccgctg 60
ctggcccaag ggcccgagg ggcgctggga aaccggcatg cgggtgactg gaacagctcc 120
aaccagcacc tgcggcgaga gggctacacc gtgcagggtga acgtgaacga ctatctggat 180
20 atttactgcc cgcactacaa cagctcgggg gtggggcccg gggcgggacc gggggcccgga 240
ggcggggcag agcagtacgt gctgtacatg gtgagccgca acggctacg cacctgcaac 300
gccagccagg gcttcaagcg ctgggagtg aaccggccgc acgcccgcga cagccccatc 360
aagttctcgg agaagttcca gcgtacagc gccttctctc tgggctacga gttccacgcc 420
ggccacgagt actactacat ctccacgcc actcacaacc tgcactggaa gtgtctgagg 480
25 atgaaggtgt tcgtctgctg cgctccaca tcgcactcgg gggagaagcc ggtccccact 540
ctccccagtc tcaccatggg cccaatatg aagatcaacg tgctggaaga ctttgaggga 600
gagaaccctc aggtgcccaa gcttgagaag agcatcagcg ggaccagccc caaacgggaa 660
cacctgcccc tggccgtggg catcgcttc ttcctcatga cgttcttggc ctctag 717
30

<210> 19
<211> 606
<212> DNA
<213> Homo sapiens
35

<300>
<302> ephrin-A3
<310> XM001784

40 <400> 19
atgcggctgc tgcccctgct ggggactgtc ctctgggccc cgttctctcg ctccccctctg 60
cgcgggggct ccagcctccg ccacgtagtc tactggaact ccagtaacct caggttgctt 120
cgaggagacg ccgtggtgga gctgggcctc aacgattacc tagacattgt ctgccccac 180
tacgaaggcc cagggccccc tgagggcccc gagacgtttg ctttgtacat ggtggactgg 240
45 ccaggctatg agtcctgcca ggcagagggc ccccgggcct acaagcgtg ggtgtgctcc 300
ctgccctttg gccatgttca attctcagag aagattcagc gcttcacacc cttctccctc 360
ggctttgagt tcttacctgg agagacttac tactacatct cggtgccac tccagagagt 420
tctggccagt gcttgaggct ccagggtgtc gtctgctgca aggagaggaa gtctgagtea 480
gcccacctct tgggagccc tggagagagt ggcacatcag ggtggcgagg gggggacact 540
50 cccagcccc tctgtctctt gctattactg ctgcttctga ttcttctgt tctgcgaatt 600
ctgtga 606

<210> 20
<211> 687
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<300>
60 <302> ephrin-A5
<310> NM001962

```

<400> 20
 atgtttgcacg tggagatggt gacgctggtg tttctggtgc tctggatgtg tgtgttcagc 60
 caggaccccg gctccaaggc cgtcgcgcgac cgctacgctg tctactggaa cagcagcaac 120
 cccagattcc agaggggtga ctaccatatt gatgtctgta tcaatgacta cctggatggt 180
 5 tctgcccctc actatgagga ctccgtccca gaagataaga ctgagcgcga tgtccctctac 240
 atgggtgaact ttgatggcta cagtgcctgc gaccacactt ccaaaggggt caagagatgg 300
 gaatgtaacc ggcctcactc tccaaatgga ccgctgaagt tctctgaaaa attccagctc 360
 ttactccctc tttctctagg atttgaattc aggccaggcc gagaatattt ctacatctcc 420
 tctgcaatcc cagataatgg aagaagggtcc tgtctaaagc tcaaagtctt tgtgagacca 480
 10 acaaatagct gtatgaaaac tatagggtgt catgatcgtg ttttcgatgt taacgacaaa 540
 tagagaaaatt cattagaacc agcagatgac accgtacatg agtcagccga gccatcccg 600
 ggcgagaacg cggcacaaac accaaggata cccagccgac ttttggcaat cctactgttc 660
 ctcttgccga tgcttttgac attatag 687

15
 <210> 21
 <211> 2955
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

20
 <400> 21
 atggccctgg attatctact actgctcctc ctggcatccg cagtggctgc gatggaagaa 60
 acgttaatgg acaccagaac ggctactgca gagctgggct ggacggccaa tcctgcgtcc 120
 gggctgggaag aagtccagtgg ctacgatgaa aacctgaaca ccattccgcac ctaccaggtg 180
 25 tgcaatgtct tcgagcccaa ccagaacaat tggctgctca ccaccttcac caaccggcgg 240
 ggggcccacg gcatctacac agagatgcgc ttactgtga gagactgcag cagcctccct 300
 aatgtccagc gatcctgcaa ggagacctc aacttgattt actatgagac tgactctgtc 360
 attgccacca agaagtcagc cttctggtct gaggccccc acctcaaagt agacaccatt 420
 gctgcagatg agagcttctc ccagggtggac tttgggggaa ggctgatgaa ggtaaacaca 480
 30 gaagtccagga gctttgggccc tcttactcgg aatgggtttt acctcgcttt tcaggattat 540
 ggagcctgta tgtctcttct ttctgtccgt gtcttcttca aaaagtgtcc cagcattgtg 600
 caaaattttg cagtgtttcc agagactatg acaggggcag agagcacatc tctgggtgatt 660
 gctcggggca catgcatccc caacgcagag gaagtggacg tgcccatcaa actctactgc 720
 aacggggatg gggaaatggat ggtgcctatt gggcgatgca cctgcaagcc tggctatgag 780
 35 cctgagaaca gcgtggcatg caaggcttgc cctgcaggga cattcaaggc cagccaggaa 840
 gctgaaggct gctccactg cccctccaac agccgctccc ctgcagagc gtctcccatc 900
 tgcacctgtc ggaccgggta ttaccgagcg gactttgacc ctccagaagt ggcatgcact 960
 agcgtcccat caggtccccc caatgttatc tccatcgta atgagacgtc catcattctg 1020
 gagtggcacc ctccaagggg gacaggtggg cgggatgatg tgacctacaa catcatctgc 1080
 40 aaaaagtgcc gggcagaccg ccggagctgc tcccgtgtg acgacaatgt ggagtttgtg 1140
 cccaggcagc ttggcctgac ggagtgcgc gtctccatca gcagcctgtg ggccacacc 1200
 ccctacacct ttgacatcca ggccatcaat ggagtctcca gcaagagtcc ctcccccca 1260
 cagcacgtct ctgtcaacat caccacaaac caagccgccc cctccaccgt tcccatcatg 1320
 caccaagtca gtgccactat gaggagcatc acctgtcat ggccacagcc ggagcagccc 1380
 45 aatggcatca tcctggacta tgagatccgg tactatgaga aggaacacaa tgagttcaac 1440
 tcctccatgg ccaggagtca gaccaacaca gcaaggattg atgggctgcg gcttggcatg 1500
 gtatatgttg tacagggtgc tgcccgcact gttgctggct acggcaagtt cagtggcaag 1560
 atgtgcttcc agactctgac tgacgatgat tacaagtcag agctgaggga gcagctgccc 1620
 ctgattgctg gctcggcagc ggcgggggtc gtgttcgttg tgtccttggg ggccatctct 1680
 50 atcgtctgta gcaggaaacg ggcttatagc aaagaggctg tgtacagcga taagctccag 1740
 cttacagca caggccgagg ctcccagggt atgaagatct acattgacct cttcacttat 1800
 gaggatccca acgaagctgt ccgggagttt gccaaaggaga ttgatgtatc ttttctgaaa 1860
 attgaagagg tcatcggagc aggggagttt ggagaagtgt acaaggggag tttgaaactg 1920
 ccaggcaaga gggaaatcta cgtggccatc aagaccctga aggcagggtg ctccggagaag 1980
 55 cagcgtcggg actttctgag tgaggcgagc atcatgggcc agttcgacca tcctaacatc 2040
 attcgctcgg aggtgtggt caccaagagt cggcctgtca tgatcatcac agagttcatg 2100
 gagaattgtg cattggattc tttcctcagg caaaatgacg ggcagttcac cgtgatccag 2160
 cttgtgggta tgctcagggg catcgctgct ggcattgaagt acctggctga gatgaattat 2220
 gtgcacccgg acctggctgc taggaacatt ctggtcaaca gtaacctggt gtgcaagggt 2280
 60 tccgactttg gcctctccc ctacctccag gatgacacct cagatcccac ctacaccagc 2340
 tccttgggag ggaagatccc tgtgagatgg acagctccag aggcacatcg ctaccgcaag 2400
 ttcacttcag ccagcgacgt ttggagctat gggatcgtca tgtgggaagt catgtcattt 2460

5 ggagagagac cctattggga tatgtccaac caagatgtca tcaatgccat cgagcaggac 2520
 taccggctgc cccaccccat ggactgtcca gctgctctac accagctcat gctggactgt 2580
 tggcagaagg accggaacag ccggccccgg tttgcgagaga ttgtcaacac cctagataag 2640
 atgatccgga acccggaag tctcaagact gtggcaacca tcaccgccgt gccttccag 2700
 cccctgctcg accgctccat cccagacttc acggccttta ccaccgtgga tgactggctc 2760
 agcgccatca aaatggtcca gtacagggac agcttcccca ctgctggctt cacctccctc 2820
 cagctggtca cccagatgac atcagaagac ctccctgagaa taggcatcac cttggcaggc 2880
 catcagaaga agatcctgaa cagcattcat tctatgaggg tccagataag tcagtcacca 2940
 acggcaatgg catga 2955

10

<210> 22

<211> 3168

<212> DNA

15 <213> Homo sapiens

<400> 22

20 atggctctgc ggaggctggg ggccgcgctg ctgctgctgc cgctgctcgc cgccgtggaa 60
 gaaacgctaa tggactccac tacagcgact gctgagctgg gctggatggg gcatcctcca 120
 tcagggtggg aagaggtgag tggctacgat gagaacatga acacgatccg cacgtaccag 180
 gtgtgcaacg tgtttgagtc aagccagaac aactggctac ggaccaagtt tatccggcgc 240
 cgtggcgccc accgcatcca cgtggagatg aagttttcgg tgcgtgactg cagcagcatc 300
 cccagcgtgc ctggctcctg caaggagacc ttcaacctct attactatga ggctgacttt 360
 gactcggcca ccaagacctt ccccaactgg atggagaatc catgggtgaa ggtggatacc 420
 25 attgcagccg acgagagctt ctcccagggtg gacctgggtg gccgcgtcat gaaaatcaac 480
 accgaggtgc ggagcttcgg acctgtgtcc cgcagcggct tctacctggc cttccaggac 540
 tatggcggct catgtccct catcgccgtg cgtgtcttct accgcaagtg ccccgcatc 600
 atccagaatg gcgccatctt ccaggaaacc ctgtcggggg ctgagagcac atcgctggtg 660
 gctgcccggg gcagctgcat cgccaatgcg gaagaggtgg atgtacctat caagctctac 720
 30 tgtaacgggg acggcgagtg gctggtgccc atcgggcgct gcatgtgcaa agcaggcttc 780
 gaggcggtt agaatggcac cgtctgccga ggttgtccat ctgggacttt caaggccaac 840
 caaggggatg aggcctgtac ccactgtccc atcaacagcc ggaccacttc tgaaggggcc 900
 accaactgtg tctgccgcaa tggctactac agagcagacc tggacccccct ggacatgccc 960
 tgcacaacca tcccctccgc gcccagggt gtgatttcca gtgtcaatga gacctccctc 1020
 35 atgctggagt ggacccctcc ccgcgactcc ggaggccgag aggacctcgt ctacaacatc 1080
 atctgcaaga gctgtggctc gggccggggg gcctgcaccc gctgcgggga caatgtacag 1140
 tacgcaccac gccagctagg cctgaccgag ccacgcattt acatcagtga cctgctggcc 1200
 cacacccagt acaccttcga gatccaggct gtgaacggcg ttactgacca gagccccctc 1260
 40 tcgcctcagt tcgcctctgt gaacatcac accaaccagg cagctccatc ggcagtgtcc 1320
 atcatgcatc aggtgagccg caccgtggac agcattacc ttgtcgtggtc ccagccagac 1380
 cagcccaatg gcgtgatcct ggactatgag ctgcagtact atgagaagga gctcagttag 1440
 tacaagccca cagccataaa aagccccacc aacacggtca ccgtgcaggg cctcaaagcc 1500
 ggcgccatct atgtcttcca ggtgcgggca cgcaccgtgg caggctacgg gcgctacagc 1560
 45 ggcaagatgt acttccagac catgacagaa gccgagtacc agacaagcat ccaggagaag 1620
 ttgccactca tcatcggtc ctcggccgct ggcctggtct tcctcattgc tgtggttgtc 1680
 atcgccatcg tgtgtaacag acgggggttt gagcgtgctg actcggagta cacggacaag 1740
 ctgcaacact acaccagtgg ccacatgacc ccaggcatga agatctacat cgatcctttc 1800
 acctacgagg accccaacga ggcagtgcgg gagtttgcca aggaaattga catctcctgt 1860
 50 gtcaaaattg agcaggtgat cggagcaggg gagtttgccg aggtctgcag tggccacctg 1920
 aagctgccag gcaagagaga gatctttgtg gccatcaaga cgctcaagtc gggctacacg 1980
 gagaagcagc gccgggactt cctgagcgaa gcctccatca tggggcagtt cgaccatccc 2040
 aacgtcatcc acctggaggg tgtcgtgacc agagacacac ctgtgatgat catcacggag 2100
 ttcatggaga atggctccct ggactccttt ctccggcaaa acgatgggca gttcacagtc 2160
 55 atccagctgg tgggcatgct tcggggcatc gcagctggca tgaagtacct ggcagacatg 2220
 aactatgttc accgtgacct ggctgcccgc aacatcctcg tcaacagcaa cctgggtctgc 2280
 aaggtgtccc actttgggct ctcacgcttt ctgagggacg atacctcaga ccccacctac 2340
 accagtgcct tgggcggaaa gatccccatc cgtggacag ccccggaagc catccagtac 2400
 cggaagtcca cctcggccag tgatgtgtgg agctacggca ttgtcatgtg ggaggtgatg 2460
 60 tcctatgggg agcggcccta ctgggacatg accaaccagg atgtaataaa tgccattgag 2520
 caggactatc ggctgccacc gccatggac tgcccagagc ccctgcacca actcatgctg 2580
 gactgttggc agaaggaccg caaccaccgg cccaagttcg gccaaattgt caacacgcta 2640
 gacaagatga tccgcaatcc caacagcctc aaagccatgg cgccctctc ctctggcatc 2700

aacctgccgc tgctggaccg cagcatcccc gactacacca gctttaacac ggtggacgag 2760
 tggctggagg ccatcaagat ggggcagtac aaggagagct tcgccaatgc cggcttcacc 2820
 tcctttgacg tcgtgtctca gatgatgatg gaggacattc tccgggttgg ggtcactttg 2880
 gctggccacc agaaaaaat cctgaacagt atccaggtga tgcgggcgca gatgaaccag 2940
 5 attcagtctg tggagggcca gccactcgcc aggaggccac gggccacggg aagaaccaag 3000
 cgggtgccagc cacgagacgt caccaagaaa acatgcaact caaacgacgg aaaaaaaaag 3060
 ggaatgggaa aaaagaaaac agatcctggg agggggcggg aaatacaagg aatatTTTTT 3120
 aaagaggatt ctcataagga aagcaatgac tgttcttgcg ggggataa 3168

10 <210> 23
 <211> 2997
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

15 <400> 23
 atggccagag cccgcccgcg gcgcccgcg tgcgcccgc cggggcttct gccgtgctc 60
 cctccgctgc tgctgctgcc gctgctgctg ctgcccgcg gctgccgggc gctggaagag 120
 accctcatgg acacaaaatg ggtaacatct gagttggcgt ggacatctca tccagaaagt 180
 20 ggggtgggaag aggtgagtgg ctacgatgag gccatgaatc ccatccgcac ataccaggtg 240
 tgtaatgtgc gcgagtcaag ccagaacaac tggcttcgca cgggggttcat ctggcggcgg 300
 gatgtgcagc ggggtctacgt ggagctcaag ttcactgtgc gtgactgcaa cagcatcccc 360
 aacatccccg gctcctgcaa ggagaccttc aacctcttct actacgaggg tgacagcgat 420
 gtggcctcag cctcctcccc cttctggatg gagaaccctt acgtgaaagt ggacaccatt 480
 25 gcacccgatg agagcttctc gcggttggat gccggcctg tcaacaccaa ggtgcgcagc 540
 tttggggcac tttccaagge tggcttctac ctggccttcc aggaccaggg cgcctgcagt 600
 togtcatct ccgctgcgcg cttctacaag aagtgtgcat ccaccaccgc aggtctcgca 660
 ctcttccccg agacctcac tggggcggag cccacctcgc tggtcattgc tcttggcacc 720
 tgcattcccta acgccgtgga ggtgtcggtg ccaactcaagc tctactgcaa cggcgatggg 780
 30 gagtggatgg tgccctgtggg tgccctgcacc tgtgccaccg gccatgagcc agctgccaag 840
 gagtcccagt gccgcccctg tccccctggg agctacaagg cgaagcaggg agagggggcc 900
 tgcccccatt gtcccccaa cagccgtacc acctcccag ccgccagcat ctgcacctgc 960
 cacaataact tctaccgtgc agactcggac tctgcggaca gtgcctgtac caccgtgcca 1020
 tctccacccc gaggtgtgat ctccaatgtg aatgaaacct cactgatcct cgagtggagt 1080
 35 gagccccggg acctgggtgt ccgggatgac ctctgtaca atgtcatctg caagaagtgc 1140
 catggggctg gaggggcctc agcctgctca cgctgtgatg acaacgtgga gtttgtgcct 1200
 cggcagctgg gcctgtcgga gccccgggtc cacaccagcc atctgctggc ccacacgcgc 1260
 tacacctttg aggtgcaggc ggtcaacggt gtctcgggca agagccctct gccgcctcgt 1320
 tatggggcgg tgaatatcac cacaaccag gctgccccgt ctgaagtgcc cacactacgc 1380
 40 ctgcacagca gctcaggcag cagcctcacc ctatcctggg cacccccaga ggggcccaac 1440
 ggagtcattc tggactacga gatgaagtac tttgagaaga gcgagggcat cgcctccaca 1500
 gtgacaggcc agatgaactc cgtgcagctg gacgggcttc ggctgtgacgc ccgctagtgtg 1560
 gtccagggtc gtgcccgcac agtagctggc tatgggcagt acagccgccc tgccgagttt 1620
 gagaccacaa gtgagagagg ctctggggcc cagcagctcc aggagcagct tccccctcatc 1680
 45 gtgggctccg ctacagctgg gcttgtcttc gtggtggctg tcgtggtcat cgctatcgct 1740
 tgccctcagga agcagcgaca cggctctgat tcggagtaca cggagaagct gcagcagtac 1800
 attgctcctg gaatgaagg tttatttgac ccttttacct acgaggaccc taatgaggct 1860
 gttcgggagt ttgccaagga gatcgacgtg tcttgcgtca agatcgagga ggtgatcgga 1920
 gctggggaat ttggggaagt gtgccgtggt cgactgaaac agcctggccg ccgagaggtg 1980
 50 tttgtggcca tcaagacgct gaaggtgggg tacaccgaga ggcagcggcg ggacttccta 2040
 agcgaggcct ccatcatggg tcagtttgat caccccaata taatccggct cgagggcggtg 2100
 gtcaccaaaa gtccggcagt tatgatcttc atgagttca tggaaaactg cgccctggac 2160
 tccttccctc ggctcaacga tgggcagttc acggtcatcc agctggtggg catgttgcgg 2220
 ggcattgctg ccggcatgaa gtacctgtcc gagatgaact atgtgcaccg cgacctggct 2280
 55 gctcgcaaca tccttgtcaa cagcaacctg gtctgcaaa tctcagactt tggcctctcc 2340
 cgcttccctg aggatgacct ctccgatcct acctacacca gttccctggg cggaagatc 2400
 cccatccgct ggactgcccc agaggccata gcctatcgga agttcacttc tgctagtgtg 2460
 gtctggagct aggaattgt catgtgggag gtcatgagct atggagagcg accctactgg 2520
 gacatgagca accaggatgt catcaatgcc gtggagcagg attaccggct gccaccaccc 2580
 60 atggactgtc ccacagcact gcaccagctc atgctggact gctgggtgcg ggaccggaac 2640
 ctcaggccca aattctccca gattgtcaat acctgggaca agctcatccg caatgtgtcc 2700
 agcctcaagg tcattgcccag cgctcagttc ggcattgtcac agccctcctt ggaccgcagc 2760

gtcccagatt acacaacctt cagcacagtt ggtgattggc tggatgccat caagatgggg 2820
 cggtagaagg agagcttcgt cagtgcgggg tttgcatctt ttgacctggt ggcccagatg 2880
 acggcagaag acctgctcgg tattgggggtc accctggccg gccaccagaa gaagatcctg 2940
 agcagtatcc aggacatgcg gctgcagatg aaccagacgc tgccctgtgca ggtctga 2997
 5
 <210> 24
 <211> 2964
 <212> DNA
 10 <213> Homo sapiens
 <400> 24
 atggagctcc ggggtgctgct ctgctgggct tcgttggccg cagctttgga agagaccctg 60
 ctgaacacaa aattggaaac tgctgatctg aagtgggtga cattccctca ggtggacggg 120
 15 cagtgggagg aactgagcgg cctggatgag gaacagcaca gcgtgcgcac ctacgaagtg 180
 tgtgaagtgc agcgtgcccc gggccaggcc cactggcttc gcacaggttg ggtcccacgg 240
 cggggcgccg tccacgtgta cgccacgctg cgcttcacca tgctcgagtg cctgtccctg 300
 cctcgggctg ggcgtcctg caaggagacc ttcaccgtct tctactatga gagcgatgag 360
 gacacggcca cggccctcac gccagcctgg atggagaacc cctacatcaa ggtggacacg 420
 20 gtggcgccgg agcatctcac ccggaagcgc cctggggccg aggccaccgg gaaggtgaat 480
 gtcaagacgc tgcgtctggg accgctcagc aaggctggct tctacctggc ctcccaggac 540
 cagggtgcct gcatggccct gctatccctg caacctctct acaaaaagtg cgcccagctg 600
 actgtgaacc tgactcgatt cccggagact gtgcctcggg agctgggtgt gcccgaggcc 660
 ggtagctgag tggtaggatg cgtccccgcc cctggcccca gccccagcct ctactgccgt 720
 25 gaggatggcc agtgggcca acagccggct acgggctgca gctgtgctcc ggggttcgag 780
 gcagctgagg ggaacaccaa gtgccgagcc tgtgccagg gcacctcaa gccctgtca 840
 ggagaagggt cctgccagcc atgccagcc aatagccact ctaacaccat tggatctgcc 900
 gtctgccagt gccgcgtcgg ggacttcagg gcacgcacag acccccgggg tgcacctgc 960
 accacccctc ctccggctcc gcggagcgtg gtttcccgcc tgaacggctc ctccctgcac 1020
 30 ctggaatgga gtgccccctt ggagtctggt ggccgagagg acctcaccta cgccctccgc 1080
 tcccgggagt gccgacccgg aggtcctctg gcgccctgag ggggagacct gacttttgac 1140
 ggccggcccc ggcagcctggt ggagccctgg gtgggtgggtc gagggtacag tccggacttc 1200
 acctatacct ttgaggtcac tgcattgaac ggggtatcct ccttagccac gggggccgct 1260
 ccatttgagc ctgtcaatgt caccactgac cgagaggtag ctctgcagat gtctgacatc 1320
 35 cgggtgacgc ggtcctcacc cagcagcttg agcctggcct gggctgttcc ccgggacacc 1380
 agtggggcgt ggctggacta cgaggtcaaa taccatgaga agggcgccga ggtcccagc 1440
 agcgtgcggg tccctgaagac gtcagaaaaa cgggcagagc tgcggggggt gaagcgggga 1500
 gccagctacc tgggtcaggt acgggcgcgc tctgaggccg gctacgggac ctccggccag 1560
 gaacatcaca gccagaccca actggatgag agcgagggtt ggccggagga gctggccctg 1620
 40 attgccccga cggcagtcgt ggggtgtggtc ctggctcctg tggtcattgt ggtcgcagtt 1680
 ctctgcctca ggaagcagag caatgggaga gaagcagaat attcggacaa acacggacag 1740
 tatctcatcg gacatggtag taagggtctac atcgacccct tcaacttatga agacccta 1800
 gaggtgtgga gggaaatttc aaaagagatc gatgtctcct acgtcaagat tgaagaggtg 1860
 attggtgcag gtgagtttgg cgaggtgtgc cgggggcggc tcaaggcccc agggaagaag 1920
 45 gagagctgtg tggcaatcaa gacctgaag ggtggctaca cggagcggca gcggcgtgag 1980
 tttctgagcg aggcctccat catgggcccag ttcgagcacc ccaatatcat ccgcctggag 2040
 ggcgtgggtc ccaacagcat gcccgctcat attctcacag agttcatgga gaacggcgcc 2100
 ctggactcct tccctgcggct aaacgacgga cagttcacag tcatccagct cgtgggcatg 2160
 ctgcggggca tgcctcggg catgcgttac cttgccgaga tgagctacgt ccaccgagac 2220
 50 ctggctgtct gcaacatcct agtcaacagc aacctcgtct gcaaagtgtc tgactttggc 2280
 ctttcccgat tccctggagg gaactcttcc gattccacct acacgagctc cctgggagga 2340
 aagattccca tccgatggac tgcccggag gccattgcct tccggaagtt cacttccgcc 2400
 agtgatgcct ggagttacgg gattgtgatg tgggaggtga tgtcatttgg ggagaggccg 2460
 tactgggaca tgagcaatca ggacgtgatc aatgccattg aacaggacta ccggctgccc 2520
 55 ccgccccag actgtccac ctcctccac cagctcatgc tggactgttg gcagaaagac 2580
 cggaatgccc gggcccgctt ccccagggtg tggacaagat gatccggaac 2640
 ccgcgcagcc tcaaaatcgt gcccgggag aatggcgggg cctcacaccc tctcctggac 2700
 cagcggcagc ctcaactact agcttttggc tctgtgggag agtggcttcg ggccatcaaa 2760
 atgggaagat acgaagccc tttcgcagcc gctggctttg gctccttcga gctggctcagc 2820
 60 cagatctctg ctgaggacct gctccgaatc ggagtcactc tggcgggaca ccagaagaaa 2880
 atcttggcca gtgtccagca catgaagtcc caggccaagc cgggaacccc ggggtgggaca 2940
 ggaggaccgg cccgcagta ctga 2964

20/95

5 <210> 25
 <211> 1041
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

 <300>
 <302> ephrin-B1
 10 <310> NM004429

 <400> 25
 atgggctcggc ctgggcagcg ttggctcggc aagtggcttg tggcgatggc cgtgtgggag 60
 ctgtgccggc tcgccacacc gctggccaag aacctggagc ccgtatcctg gagctccctc 120
 15 aaccccaagt tccctgagtgg gaagggttg gtgatctatc cgaaaattgg agacaagctg 180
 gacatcatct gcccccagc agaagcaggg cggccctatg agtactacaa gctgtacctg 240
 gtgcggcctg agcaggcagc tgcctgtagc acagttctcg accccaacgt gttggtcacc 300
 tgcaataggc cagagcagga aatacgcttt accatcaagt tccaggagtt cagccccaac 360
 tacatggggc tggagttcaa gaagcaccat gattactaca ttacctcaac atccaatgga 420
 20 agcctggagg ggctggaaaa ccgggagggc ggtgtgtgcc gcacacgcac catgaagatc 480
 atcatgaagg ttgggcaaga tcccaatgct gtgacgcctg agcagctgac taccagcagg 540
 cccagcaagg aggcagacaa cactgtcaag atggccacac aggccctgg tagtcggggc 600
 tccttgggtg actctgatgg caagcatgag actgtgaacc aggaagagaa gagtggcca 660
 ggtgcaagtg ggggcagcag cggggaccct gatggcttct tcaactccaa ggtggcattg 720
 25 ttgcgggctg tcgggtgccg ttgcgtcatc ttctgtctca tcatcatctt cctgacgggc 780
 ctactactga agctacgcaa gcggcacgc aagcacacac agcagcgggc ggctgccctc 840
 tcgctcagta ccctggccag tcccaagggg ggagtgga cagcgggcac cgagcccagc 900
 gacatcatca ttcccttacg gactacagag aacaactact gccccacta tgagaagggtg 960
 agtggggact acgggcaccc tgtctacatc gtccaagaga tgccgcccc a gagcccgagg 1020
 30 aacatctact acaagggtctg a 1041

 <210> 26
 <211> 1002
 35 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

 <300>
 <400> 26
 atggctgtga gaagggactc cgtgtggaag tactgctggg gtgttttgat ggttttatgc 60
 agaactgcga ttcccaaate gatagtttta gagcctatct attggaattc ctggaactcc 120
 aaatttctac ctggacaagg actggtacta taccacaga taggagacaa attggatatt 180
 atttgcccca aagtggactc taaaactggt ggccagtatg aatattataa agtttatatg 240
 45 gttgataaag accaagcaga cagatgcact attaagaagg aaaatacccc tctcctcaac 300
 tgtgccaatc cagaccaaga tatcaaattc accatcaagt ttcaagaatt cagccctaac 360
 ctctgggggtc tagaatttca gaagaacaaa gattattaca ttatatctac atcaaatggg 420
 tctttggagg gcctggataa ccaggagggg ggggtgtgcc agacaagagc catgaagatc 480
 ctcatgaaag ttggacaaga tgcaagtctt gctggatcaa ccaggaataa agatccaaca 540
 50 agacgtccag aactagaagc tggtaacaaat ggaagaagtt cgacaacaag tccctttgta 600
 aaaccaaate caggttctag cacagacggc aacagcgccg gacattcggg gaacaacatc 660
 ctcggttccg aagtggcctt atttgcaggg attgcttcag gatgcacatc cttcatcgtc 720
 atcatcatca cgctggtggt cctcttgcgt aagtaccgga ggagacacag gaagcactcg 780
 ccgcagcaca cgaccacgct gtcgctcagc acactggcca caccgaagcg cagcggcaac 840
 55 aacaacggct cagagcccag tgacattatc atcccgttaa ggactgcgga cagcgtcttc 900
 tgccctcact acgagaaggc cagcggcgac tacgggcacc cgggtgtacat cgtccaggag 960
 atgccccgc agagcccggc gaacattttac tacaaggctc ga 1002

 60 <210> 27
 <211> 1023
 <212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 27

```

5 atgggggcccc cccattctgg gccggggggc gtgcgagtcg gggccctgct gctgctgggg 60
  gttttggggc tgggtgtctgg gctcagcctg gagcctgtct actggaactc ggcgaaataag 120
  aggttccagg cagaggggtgg ttatgtgctg taccctcaga tcggggaccg gctagacctg 180
  ctctgcccc gggtccggcc tcctggccct cactcctctc ctaattatga gttctacaag 240
  ctgtacctgg taggggtgct tcaggggccg cgctgtgagg caccctctgc cccaaacctc 300
  cttctcactt gtgatcgccc agacctggat ctccgcttca ccatcaagtt ccaggagtat 360
10 agccctaatac tctggggcca cgagttccgc tcgcaccacg attactacat cattgccaca 420
  tcggatggga cccgggaggg cctggagagc ctgcagggag gtgtgtgcct aaccagaggc 480
  atgaaggtgc ttctccgagt gggacaaagt ccccgaggag gggctgtccc ccgaaaacct 540
  gtgtctgaaa tgcccatgga aagagaccga ggggcagccc acagcctgga gcctgggaag 600
  gagaacctgc caggtgacct caccagcaat gcaacctccc ggggtgctga agggccctctg 660
15 cccctcccca gcctgcctgc agtggctggg gcagcagggg ggctggcgct gctcttgctg 720
  ggcgtggcag gggctggggg tgccatgtgt tggcggagac ggcgggcca gccttcggag 780
  agtcgccacc ctggtcctgg ctcttcggg aggggagggg ctctgggcct ggggggtgga 840
  ggtgggatgg gacctcgga ggctgagcct ggggagctag ggatagctct gcggggtggc 900
  ggggctgcag atccccctt ctgccccac tatgagaagg tgagtgtga ctatgggcat 960
20 cctgtgtata tcgtgcagga tgggcccccc cagagccctc caaacatcta ctacaaggta 1020
  tga 1023

```

<210> 28

25 <211> 3399

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<300>

30 <302> telomerase reverse transcriptase

<310> AF015950

<400> 28

```

35 atgccgcgcg ctccccgctg ccgagccgtg cgctccctgc tgcgcagcca ctaccgcgag 60
  gtgctgccgc tggccacgtt cgtgcggcgc ctggggcccc agggctggcg gctgggtgcag 120
  cgcggggacc cggcgctttt ccgcgcgctg gtggcccagt gcctgggtgtg cgtgccttgg 180
  gacgcacggc cgccccccgc cgccccctcc ttccgccagg tgtcctgcct gaaggagctg 240
  gtggccccgag tgctgcagag gctgtgcgag cgcggcgcca agaactgtct ggccttcggc 300
  ttccgcgtgc tggacggggc ccgcgggggc cccccgagg ccttcaccac cagcgtgcgc 360
40 agctacctgc ccaacacggt gaccgacgca ctgcggggga gcggggcgtg ggggctgctg 420
  ctgcgccgcg tgggcgacga cgtgtggtt cacctgctgg cacgtgcgc gctctttgtg 480
  ctggtggctc ccagctgcgc ctaccaggtg tgcgggccgc cgctgtacca gctcggcgct 540
  gccactcagg cccggcccc gcacacgct agtggacccc gaaggcgtct gggatgcgaa 600
  cgggcctgga accatagcgt cagggaggcc ggggtcccc tgggcctgcc agccccgggt 660
45 gcgaggaggc gcgggggagc tgccagccga agtctgccg tgcccaagag gccaggcgt 720
  ggcgtgccc ctgagccgga gcggacgccc gttgggcagg ggtcctgggc ccaccgggc 780
  aggacgcgtg gaccagtgga ccgtggtttc tgtgtggtgt cacctgccag accgcgcaa 840
  gaagccacct ctttgagggt tgcgtctctt ggcacgcgcc actcccacc atcgtgggc 900
  cgccagcacc acgcggggcc cccatccaca tcgcggccac cacgtccctg ggacacgcct 960
50 tgtcccccg tgtacgcga gaccaagcac ttctctact cctcaggcga caaggagcag 1020
  ctgcggccct ccttctact cagctctctg agggccagcc tgactgggc tcggaggctc 1080
  ttggagacca tctttctggg ttccaggccc tggatgccag ggactcccc caggttgccc 1140
  cgctggcccc agcgtactg gcaaatgcgg cccctgttct tggagctgct tgggaaccac 1200
  gcgcagtgcc cctacggggt gctcctcaag acgcactgcc cgctgcgagc tgcggtcacc 1260
55 ccagcagccg gtgtctgtgc ccgggagaag ccccagggt ctgtggcggc ccccaggag 1320
  gaggacacag accccgctc cctggtgcag ctgctccgc agcacagcag cccctggcag 1380
  gtgtacggct tcgtgcgggc ctgcctgcgc ctgcctgtgc cccaggcct ctggggctcc 1440
  aggcacaacg aacgcgctt cctcaggaac accaagaagt tcatctccct ggggaagcat 1500
  gccaaagctc cgctgcagga gctgacgtgg aagatgagcg tgcgggactg cgcttggtc 1560
60 cgcaggagcc caggggttgg ctgtgttccg gccgcagag accgtctgcg tgaggagatc 1620
  ctggccaagt tcctgcactg gctgatgagt gtgtacgtc tcgagctgct caggtcttct 1680
  ttttatgtca cggagaccac gtttcaaaag aacaggctct ttttctaccg gaagagtgtc 1740

```

5 tggagcaagt tgcaaagcat tggaaatcaga cagcacttga agaggggtgca gctgcggggag 1800
 ctgtcgggaag cagagggtcag gcagcatcgg gaagccaggc ccgccctgct gacgtccaga 1860
 ctccgcttca tccccaagcc tgacgggctg cggccgattg tgaacatgga ctacgtcgtg 1920
 ggagccagaa cgttccgcag agaaaagagg gccgagcgtc tcacctcgag ggtgaaggca 1980
 ctgttcagcg tgctcaacta cgagcgggcg cggcgccccg gcctcctggg cgcctctgtg 2040
 ctggggcctgg acgatatacca cagggcctgg cgcaccttcg tgctgcgtgt gcgggccccag 2100
 gaccgcggcg ctgagctgta ctttgtcaag gtggatgtga cgggcgcgta cgacaccatc 2160
 cccaggaca ggctcacgga ggtcatcgcc agcatcatca aacccagaa cacgtactgc 2220
 gtgcgtcggg atgccgtggg ccagaaggcc gcccatgggc acgtccgcaa ggccttcaag 2280
 10 agccacgtct ctaccttgac agacctccag ccgtacatgc gacagttcgt ggctcacctg 2340
 caggagacca gccgcgtgag ggatgccgtc gtcacgcagc agagctcctc cctgaatgag 2400
 gccagcagtg gcctcttcga cgtcttccta cgcttcacgt gccaccacgc cgtgcgcac 2460
 aggggcaagt cctacgtcca gtgccagggg atcccgcagg gctccatcct ctccacgtg 2520
 ctctgcagcc tgtgtacgg cgacatggag aacaagctgt ttgcggggat tgcgggggac 2580
 15 gggctgctcc tgcgtttggg ggatgatttc ttgttgggtga cacctcacct caccacgcg 2640
 aaaaccttcc tcaggaccct ggtccgagg gtccctgagt atggctcgt ggtgaacttg 2700
 cggaagacag tgggtgaactt ccctgtagaa gacgaggccc tgggtggcac ggcttttgtt 2760
 cagatgccgg cccacggcct attcccctgg tgcggcctgc tgctggatac ccggaccctg 2820
 gaggtgcaga gcgactactc cagctatgcc cggacctcca tcagagccag tctcaccttc 2880
 20 aaccgcgggt tcaaggctgg gaggaacatg cgtcgcaaac tctttggggg cttgcggctg 2940
 aagtgtcaca gcctgtttct ggatttgcag gtgaacagcc tccagacggg gtgcaccaac 3000
 atctacaaga tctcctcgtc gcaggcgtac aggtttcacg catgtgtgct gcagctccca 3060
 tttcatcagc aagtttggaa gaacccaca ttttctcgc gcgtcatctc tgacacggcc 3120
 tccctctgct actccatcct gaaagccaag aacgcaggga tgtcgtcggg ggccaagggc 3180
 25 gccgcgggcc ctctgccctc cgaggccgtg cagtggctgt gccaccaagc attcctgctc 3240
 aagctgactc gacaccgtgt cacctacgtg ccactcctgg ggtcactcag gacagcccag 3300
 acgcagctga gtcggaagct cccggggacg acgctgactg ccctggaggc cgcagccaac 3360
 ccggcactgc cctcagactt caagaccatc ctggactga 3399

30 <210> 29
 <211> 567
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

35 <300>
 <302> K-ras
 <310> M54968

40 <400> 29
 atgactgaat ataaacttgt ggtagttgga gcttgtggcg taggcaagag tgccttgacg 60
 atacagctaa ttcagaatca ttttgtggac gaatatgatc caacaataga ggattcctac 120
 aggaagcaag tagtaattga tggagaaacc tgtctcttgg atattctcga cacagcagg 180
 caagaggagt acagtgcatt gagggaccag tacatgagga ctggggaggg ctttctttgt 240
 45 gtatttgcca taaataatac taaatcattt gaagatattc accattatag agaacaaatt 300
 aaaagagtta aggactctga agatgtacct atggtcctag taggaaataa atgtgatttg 360
 cttctagaa cagtagacac aaaacaggct caggacttag caagaagtta tggaaattcct 420
 tttattgaaa catcagcaaa gacaagacag ggtgttgatg atgccttcta tacattagtt 480
 cgagaaattc gaaaacataa agaaaagatg agcaaaagatg gtaaaaagaa gaaaaagaag 540
 50 tcaaagacaa agtgtgtaat tatgtaa 567

55 <210> 30
 <211> 3840
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

60 <300>
 <302> mdr-1
 <310> AF016535
 <400> 30

	atggatcttg	aaggggaccg	caatggagga	gcaaagaaga	agaacttttt	taaactgaac	60
	aataaaagtg	aaaaagataa	gaaggaaaag	aaaccaactg	tcagtgtatt	ttcaatgttt	120
	cgctattcaa	attggcctga	caagttgtat	atgggtgggtg	gaactttggc	tgccatcatc	180
	catggggctg	gacttcctct	catgatgctg	gtgtttggag	aaatgacaga	tatctttgca	240
5	aatgcaggaa	atrtagaaga	tctgatgtca	aacatcacta	atagaagtga	tatcaatgat	300
	acagggttct	tcataaatct	ggaggaagac	atgaccaggt	atgcctatta	ttacagtggg	360
	attgggtgctg	gggtgctggg	tgctgcttac	atrcagggtt	catttttggg	cctggcagct	420
	ggaagacaaa	tacacaaaat	tagaaaacag	ttttttcatg	ctataatgcg	acaggagata	480
	ggctgggttg	atgtgcacga	tggtggggag	cttaacaccc	gacttacaga	tgatgtctcc	540
10	aagattaatg	aaggaattgg	tgacaaaatt	ggaatgttct	ttcagtcaat	ggcaacattt	600
	ttcactgggt	ttatagtagg	atrtacacgt	ggttggaagc	taacccttgt	gattttggcc	660
	atcagtcctg	ttcttggact	gtcagctgct	gtctgggcaa	agatactatc	ttcattttact	720
	gataaagaac	tcttagcgta	tgcaaaagct	ggagcagtag	ctgaagaggt	cttggcagca	780
	attagaactg	tgattgcatt	tgaggagcaa	aagaaagaac	ttgaaaggta	caacaaaaat	840
15	ttagaagaag	ctaaaagaat	tgggataaag	aaagctatta	cagccaatat	ttctataggt	900
	gctgctttcc	tgctgatcta	tgcatcttat	gctctggcct	tctggtatgg	gaccaccttg	960
	gtcctctcag	gggaatatct	tattggacaa	gtactcactg	tattttctgt	attaattggg	1020
	gcttttagtg	ttggacaggc	atctccaagc	attgaagcat	ttgcaaatgc	aagaggagca	1080
	gcttatgaaa	tcttcaagat	aattgataat	aagccaagta	ttgacagcta	ttcgaagagt	1140
20	gggcacaaac	cagataatat	taagggaaat	ttggaattca	gaaatgttca	cttcagttac	1200
	ccatctcgaa	aagaagttaa	gatcttgaag	ggctctgaacc	tgaagggtga	gagtgggcag	1260
	acggtggccc	tggttggaaa	cagtggtgtg	gggaagagca	caacagtcca	gctgatgcag	1320
	aggctctatg	acccacacaga	gggatgggtc	agtgttgatg	gacaggatat	taggaccata	1380
	aatgtaagg	ttctacggga	aatcattggg	gtggtgagtc	aggaacctgt	attgtttgcc	1440
25	accacgatag	ctgaaaacat	tcgctatggc	cgtgaaaatg	tcaccatgga	tgagattgag	1500
	aaagctgtca	aggaagccaa	tgccatagac	tttatcatga	aactgcctca	taaatttgac	1560
	acctgtgttg	gagagagagg	ggcccagttg	agtgggtggc	agaagcagag	gatcgccatt	1620
	gcacgtgccc	tggttcgcaa	ccccaaagatc	ctcctgctgg	atgaggccac	gtcagccttg	1680
	gacacagaaa	gcgaagcagt	ggttcagggtg	gctctggata	aggccagaaa	aggctcgacc	1740
30	accattgtga	tagctcatcg	tttgtctaca	gttcgtaatg	ctgacgtcat	cgctggtttc	1800
	gatgatggag	tcattgtgga	gaaaggaaat	catgatgaac	tcatgaaaga	gaaaggcatt	1860
	tacttcaaac	ttgtcacaa	gcagacagca	ggaaatgaag	ttgaattaga	aaatgcagct	1920
	gatgaatcca	aaagtgaat	tgatgccttg	gaaatgtctt	caaatgatcc	aagatccagt	1980
	ctaataagaa	aaagatcaac	tcgtaggagt	gtccgtggat	cacaagccca	agacagaaa	2040
35	cttagtagca	aagaggctct	ggatgaaagt	atacctccag	tttccttttg	gaggattatg	2100
	aagctaaatt	taactgaatg	gccttatttt	gttggtgggtg	tattttgtgc	cattataaat	2160
	ggaggcctgc	aaccagcatt	tgcaataata	ttttcaaaaga	ttataggggt	ttttataaga	2220
	attgatgata	ctgaaacaaa	acgacagaat	agtaacttgt	tttcactatt	gtttctagcc	2280
	cttggaaatta	tttcttttat	tacatttttc	cttcagggtt	tcacatttgg	caaagctgga	2340
40	gagatcctca	ccaagcggct	ccgatacatg	gttttccgat	ccatgctcag	acaggatgtg	2400
	agttgggttg	atgaccctaa	aaacaccact	ggagcattga	ctaccaggct	cgccaatgat	2460
	gctgctcaag	ttaaaagggc	tataggttcc	aggcttgctg	taattaccca	gaatatagca	2520
	aatcttggga	caggaataat	tatactcttc	atctatgggt	ggcaactaac	actgttactc	2580
	ttagcaattg	tacccatcat	tgcaatagca	ggagttgttg	aaatgaaaat	gttgtctgga	2640
45	caagcactga	aagataagaa	agaactagaa	gggtgctggg	agatcgctac	tgaagcaata	2700
	gaaaacttcc	gaaccgttgt	ttctttgact	caggagcaga	agtttgaaca	tatgtatgct	2760
	cagagtttgc	aggtaccata	cagaaactct	ttgaggaaag	cacacatctt	tggaaattaca	2820
	ttttccttca	cccaggcaat	gatgtatttt	tcctatgctg	gatgtttccg	gtttggagcc	2880
	tacttggtgg	cacataaact	catgagcttt	gaggatgttc	tgtagtattt	ttcagctgtt	2940
50	gtctttgggtg	ccatggccgt	ggggcaagtc	agttcatttg	ctcctgacta	tgccaaagcc	3000
	aaaatatcag	cagccacat	catcatgatc	attgaaaaaa	cccctttgat	tgacagctac	3060
	agcacggaag	gcctaatgcc	gaacacattg	gaaggaaatg	tcacatttgg	tgaagtgtga	3120
	ttcaactatc	ccaccggacc	ggacatccca	gtgcttcagg	gactgagcct	ggaggtgaag	3180
	aagggccaga	cgctggctct	ggtgggcagc	agtggctgtg	ggaagagcac	agtggctccag	3240
55	ctcctggagc	ggttctacga	ccccttggca	gggaaagtgc	tgcttgatgg	caaagaaata	3300
	aagcgactga	atgttcagtg	gctccgagca	cacctgggca	tcgtgtccca	ggagcccata	3360
	ctgtttgact	gcagcattgc	tgagaacatt	gcctatggag	acaacagccg	gggtgtgtca	3420
	caggaagaga	ttgtgagggc	agcaaaaggag	gccaacatac	atgccttcat	cgagtactctg	3480
	cctaataaat	atagcactaa	agtaggagac	aaaggaaatc	agctctctgg	tggccagaaa	3540
60	caacgcattg	ccatagctcg	tgcccttggt	agacagcctc	atattttgct	tttgatgaa	3600
	gccacgtcag	ctctggatac	agaaagtga	aaggttgctc	aagaagccct	ggacaaagcc	3660
	agagaaggcc	gcacctgcat	tgtgattgct	caccgctgtg	ccaccatcca	gaatgcagac	3720

ttaatagtggtggtttcagaa tggcagagtc aaggagcatg gcacgcatca gcagctgctg 3780
gcacagaaag gcatctatatt ttcaatggtc agtgtccagg ctggaacaaa gcgccagtga 3840

5 <210> 31
<211> 1318
<212> DNA
<213> Homo sapiens

10 <300>
<302> UPAR (urokinase-type plasminogen activator receptor)
<310> XM009232

<400> 31
15 atgggtcacc cgccgctgct gccgctgctg ctgctgctcc acacctgcgt cccagcctct 60
tggggcctgc ggtgcatgca gtgtaagacc aacggggatt gccgtgtgga agagtgcgcc 120
ctgggacagg acctctgcag gaccacgacg gtgcgcttgt gggaagaagg agaagagctg 180
gagctgggtg agaaaagctg taccactca gagaagacca acaggaccct gagctatcgg 240
actggcttga agatcaccag ccttaccgag gttgtgtgtg ggttagactt gtgcaaccag 300
20 ggcaactctg gccgggctgt cacctattcc cgaagccgtt acctcgaatg catttcctgt 360
ggctcatcag acatgagctg tgagaggggc cggcaccaga gcctgcagtg ccgcagccct 420
gaagaacagt gcctggatgt ggtgacccac tggatccagg aaggtgaaga agggcgcca 480
aaggatgacc gccacctcgc tggctgtggc taccttccc gctgcccggg ctccaatggt 540
ttccacaaca acgacacctt ccacttcctg aaatgctgca acaccacca atgcaacgag 600
25 ggcccaatcc tggagcttga aaatctgccg cagaatggcc gccagtgtta cagctgcaag 660
gggaacagca cccatggatg ctctctgaa gagactttcc tcattgactg ccgagggccc 720
atgaatcaat gtctggtagc caccggcact cacgaaccga aaaaccaaag ctatatggta 780
agaggctgtg caaccgcctc aatgtgcca catgcccacc tgggtgacgc cttcagcatg 840
aaccacattg atgtctcctg ctgtactaaa agtggctgta accaccaga cctggatgtc 900
30 cagtaccgca gtggggctgc tcctcagcct ggccctgccc atctcagcct caccatcacc 960
ctgctaataga ctgccagact gtggggaggc actctcctct ggacctaaac ctgaaatccc 1020
cctctctgcc ctggctggat ccgggggacc cctttgccc tccctcggct cccagcccta 1080
cagacttgct gtgtgacctc aggccagtgt gccgacctct ctgggacctca gttttcccag 1140
ctatgaaaac agctatctca caaagttgtg tgaagcagaa gagaaaagct ggaggaaaggc 1200
35 cgtgggcca tgggagagct cttgttatta ttaatatgtg tgccgctgtt gtgtgtgtgt 1260
tattaattaa tattcatatt atttatttta tacttacata aagattttgt accagtgg 1318

<210> 32
40 <211> 636
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<300>
45 <302> Bak
<310> U16811

<400> 32
50 atggcttcgg ggcaaggccc aggtcctccc aggcaggagt gcggagagcc tgccctgccc 60
tctgcttctg aggagcagggt agcccaggac acagaggagg ttttccgcag ctacgttttt 120
taccgccatc agcaggaaca ggaggctgaa ggggtggctg cccctgccga cccagagatg 180
gtcaccttac ctctgcaacc tagcagcacc atggggcagg tgggacggca gctcgccatc 240
atcggggacg acatcaaccg acgctatgac tcagagttcc agaccatgtt gcagcacctg 300
cagcccacgg cagagaatgc ctatgagtac ttcaccaaga ttgccaccag cctgtttgag 360
55 agtggcatca attggggccg tgtgtgtggc cttctgggct tcggctaccg tctggcccta 420
cacgtctacc agcatggcct gactggcttc ctaggccagg tgaccgcctt cgtggctgac 480
ttcatgctgc atcactgcat tgcccgggtg attgcacaga ggggtggctg ggtggcagcc 540
ctgaacttgg gcaatggtcc catctgaac gtgctggtgg ttctgggtgt ggttctgttg 600
60 ggccagtttg tggtagaag attcttcaaa tcatga 636

<210> 33

<211> 579
<212> DNA
<213> Homo sapiens

5 <300>
<302> Bax alpha
<310> L22473

<400> 33
10 atggacgggt cccggggagca gccagaggc gggggggccca ccagctctga gcagatcatg 60
aagacagggg cccttttgct tcagggtttc atccaggatc gagcagggcg aatggggggg 120
gaggcaccgg agctggccct ggaccgggtg cctcaggatg cgtccacca gaagctgagc 180
gagtgtctca agcgcatcgg ggacgaactg gacagtaaca tggagctgca gaggatgatt 240
gccgccgtgg acacagactc ccccgagag gtctttttcc gaggggcagc tgacatgttt 300
15 tctgacggca acttcaactg gggccgggtt gtcgcccttt tctactttgc cagcaaaactg 360
gtgctcaagg ccctgtgcac caagggtgcc gaactgatca gaaccatcat gggctggaca 420
ttggacttcc tccgggagcg gctgttgggc tggatccaag accaggggtg ttggggacggc 480
ctcctctcct actttgggac gccacgtgg cagaccgtga ccatctttgt ggcgggagtg 540
ctcaccgcct cgctcaccat ctggaagaag atgggctga 579

20 <210> 34
<211> 657
<212> DNA
25 <213> Homo sapiens

<300>
<302> Bax beta
<310> L22474

30 <400> 34
atggacgggt cccggggagca gccagaggc gggggggccca ccagctctga gcagatcatg 60
aagacagggg cccttttgct tcagggtttc atccaggatc gagcagggcg aatggggggg 120
gaggcaccgg agctggccct ggaccgggtg cctcaggatg cgtccacca gaagctgagc 180
35 gagtgtctca agcgcatcgg ggacgaactg gacagtaaca tggagctgca gaggatgatt 240
gccgccgtgg acacagactc ccccgagag gtctttttcc gaggggcagc tgacatgttt 300
tctgacggca acttcaactg gggccgggtt gtcgcccttt tctactttgc cagcaaaactg 360
gtgctcaagg ccctgtgcac caagggtgcc gaactgatca gaaccatcat gggctggaca 420
ttggacttcc tccgggagcg gctgttgggc tggatccaag accaggggtg ttgggtgaga 480
40 ctctctcaagc ctctcacc ccaccaccgc gccctcacc caaggggtgc cccaccgtcc 540
ctgccccccg ccactcctct gggaccctgg gccttctgga gcaggtcaca gtggtgccct 600
ctccccatct tcagatcatc agatgtggtc tataatgcgt tttccttacg tgtctga 657

45 <210> 35
<211> 432
<212> DNA
<213> Homo sapiens

50 <300>
<302> Bax delta
<310> U19599

<400> 35
55 atggacgggt cccggggagca gccagaggc gggggggccca ccagctctga gcagatcatg 60
aagacagggg cccttttgct tcagggtttc attgccgcgg tggacacaga ctccccccga 120
gaggctctttt tccgagtggc agctgacatg ttttctgacg gcaacttcaa ctggggccgg 180
gttgtcgccc ttttctactt tgccagcaaa ctggtgtctca aggccctgtg caccaagggtg 240
ccggaactga tcagaacct catgggctgg acattggact tcttccggga gcggctgttg 300
60 ggctggatcc aagaccaggg tggttgggac ggctcctct cctactttgg gacgcccacg 360
tggcagaccg tgaccatctt tgtggcggga gtgctcaccg cctcgctcac catctggaag 420
aagatgggct ga 432

5 <210> 36
 <211> 495
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

 <300>
 <302> Bax epsolin
 10 <310> AF007826

 <400> 36
 atggacgggt ccggggagca gcccagaggc ggggggcccc ccagctctga gcagatcatg 60
 aagacagggg cccttttgct tcagggtttc atccaggatc gagcagggcg aatggggggg 120
 15 gaggcacccg agctggccct ggacccgggtg cctcaggatg cgtccacca gaagctgagc 180
 gagtgtctca agcgcatcgg ggacgaactg gacagtaaca tggagctgca gaggatgatt 240
 gccgccgtgg acacagactc cccccgagag gtctttttcc gagtggcagc tgacatgttt 300
 tctgacggca acttcaactg gggccgggtt gtgcgccctt tctactttgc cagcaaactg 360
 gtgctcaagg ctggcgtgaa atggcgtgat ctgggctcac tgcaacctct gcctcctggg 420
 20 ttcaagcgat tcacctgcct cagcatccca aggagctggg attacaggcc ctgtgcacca 480
 aggtgccgga actga 495

 <210> 37
 25 <211> 582
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

 <300>
 30 <302> bcl-w
 <310> U59747

 <400> 37
 atggcgaccc cagcctcggc cccagacaca cgggctcttg tggcagactt tgtaggttat 60
 35 aagctgaggg agaaggggta tgtctgtgga gctggccccg gggagggccc agcagctgac 120
 ccgctgcacc aagccatgcg ggcagctgga gatgagttcg agaccgctt ccggcgacc 180
 ttctctgate tggcggtcga gctgcatgtg accccaggct cagcccagca acgcttcacc 240
 caggtctccg acgaactttt tcaagggggc cccaactggg gccgccttgt agccttcttt 300
 gtctttgggg ctgcaactgtg tgctgagagt gtcaacaagg agatggaacc actggtggga 360
 40 caagtgcagg agtggtggt ggcctacctg gagacgcggc tggctgactg gatccacagc 420
 agtgggggct gggcgaggt caccagctcta tacggggacg gggccctgga ggaggcgcgg 480
 cgtctgcggg aggggaactg ggcatacagt aggacagtgc tgacgggggc cgtggcactg 540
 ggggcccttg taactgtagg ggcctttttt gctagcaagt ga 582

 45 <210> 38
 <211> 2481
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

 <300>
 <302> HIF-alpha
 <310> U22431

 55 <400> 38
 atggaggggc cggcgggcgc gaacgacaag aaaaagataa gttctgaacg tcgaaaagaa 60
 aagtctcgag atgcagccag atctcggcga agtaaagaat ctgaagtttt ttatgagctt 120
 gctcatcagt tgccacttcc acataatgtg agttcgcac ttgataaggc ctctgtgatg 180
 aggcttacca tcagctattt gcgtgtgagg aaacttctgg atgctggtga tttggatatt 240
 60 gaagatgaca tgaaagcaca gatgaattgc ttttatttga aagccttgga tggttttgtt 300
 atggttctca cagatgatgg tgacatgatt tacatttctg ataattgtga caaatcatg 360
 ggattaactc agtttgaact aactggacac agtgtgtttg attttactca tccatgtgac 420

catgaggaaa tgagagaaat gcttacacac agaaatggcc ttgtgaaaaa gggtaaagaa 480
 caaaacacac agcgaagcct tttctcaga atgaagtgtt ccctaactag ccgaggaaga 540
 actatgaaca taaagtctgc aacatggaag gtattgcact gcacaggcca cattcacgta 600
 5 tatgatacca acagtaacca acctcagtggt ggggtataaga aaccacctat gacctgcttg 660
 gtgctgattt gtgaacccat tcctcaccca tcaaatattg aaattccttt agatagcaag 720
 actttcctca gtcgacacag cctggatatg aaattttctt attgtgatga aagaattacc 780
 gaattgatgg gatattgagcc agaagaactt ttaggccgct caatttatga atattatcat 840
 gctttggact ctgatcatct gaccaaact catcatgata tgtttactaa aggacaagtc 900
 10 accacaggac agtacaggat gcttgccaaa agagggtgat atgtctgggt tgaaactcaa 960
 gcaactgtca tatataacac caagaattct caaccacagt gcattgtatg tgtgaattac 1020
 gttgtgagtg gtattattca gcacgacttg atttctccc ttcaacaaac agaattgtgc 1080
 cttaaaaccgg ttgaatcttc agatatgaaa atgactcagc tattcaccaa agttgaatca 1140
 gaagatacaa gtgacctctt tgacaaactt aagaaggaac ctgatgcttt aactttgctg 1200
 gccccagccg ctggagacac aatcatatct ttagattttg gcagcaacga cacagaaact 1260
 15 gatgaccagc aacttgagga agtaccatta tataatgatg taatgctccc ctcacccaac 1320
 gaaaaattac agaataataa tttggcaatg tctccattac ccaccgctga aacgccaaaag 1380
 ccacttcgaa gtagtgcctga ccctgcactc aatcaagaag ttgcattaaa attagaacca 1440
 aatccagagt cactggaact ttcttttacc atgccccaga ttcaggatca gacacctagt 1500
 ccttcgatg gaagcactag acaaaagtcca cctgagccta atagtcccag tgaatattgt 1560
 20 ttttatgtgg atagtgatat ggtcaatgaa ttcaagttgg aattggtaga aaaacttttt 1620
 gctgaagaca cagaagcaaa gaaccatttt tctactcagg acacagattt agacttggag 1680
 atgttagctc cctatatccc aatggatgat gacttccagt tacgttctct cgatcagttg 1740
 tcaccattag aaagcagttc cgcaagccct gaaagcgcaa gtcctcaaag cacagttaca 1800
 gtattccagc agactcaaat acaagaacct actgctaag ccaccactac cactgccacc 1860
 25 actgatgaat taaaaacagt gacaaaagac cgtatggaag acattaaaaat attgattgca 1920
 tctccatctc ctaccacat acataaagaa actactagt ccacatcatc accatataga 1980
 gatactcaaa gtccgacagc ctcaccaaac agagcaggaa aaggagtcac agaacagaca 2040
 gaaaaatctc atccaagaag ccctaacgtg ttatctgtcg ctttgagtca aagaactaca 2100
 gttcctgagg aagaactaaa tccaaagata ctactgttg agaatgtca gagaaagcga 2160
 30 aaaatggaac atgatgggtc actttttcaa gcagtaggaa ttggaacatt attacagcag 2220
 ccagacgata atgcagctac tacatcactt tcttggaaac gtgtaaaagg atgcaaatct 2280
 agtgaacaga atggaatgga gcaaaagaca attattttaa taccctctga tttagcatgt 2340
 agactgctgg ggcaatcaat ggatgaaagt ggattaccac agctgaccag ttatgattgt 2400
 gaagttaatg ctctatatac aggcagcaga aacctactgc aggggtgaaga attactcaga 2460
 35 gctttggatc aagttaactg a 2481

<210> 39
 <211> 481
 40 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<300>
 <302> ID1
 45 <310> X77956

<400> 39
 atgaaagtgc ccagtggcag caccgccacc gccgccgcgg gccccagctg cgcgctgaag 60
 gccggcaaga cagcgagcgg tgcgggagcgt gtgggtgcgt gtctgtctga gcagagcgtg 120
 50 gccatctcgc gctgccgggg cgccggggcg cgctgcctg ccctgctgga cgagcagcag 180
 gtaaacgtgc tgctctacga catgaacggc tggtactcac gcctcaagga gctgggtgcc 240
 accctgcccc agaaccgcaa ggtgagcaag gtggagatc tccagcacgt catcgactac 300
 atcagggacc ttcagttgga gctggaactg gaatccgaag ttgggacccc cgggggccga 360
 gggctgccgg tccgggctcc gctcagcacc ctcaacggcg agatcagcgc cctgacggcc 420
 55 gaggcggcat gcgttcctgc ggacgatcgc atcttgtgtc gctgaatggt gaaaaaaaaa 480
 a 481

<210> 40
 60 <211> 110
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<300>
<302> ID2B
<310> M96843

5

<400> 40
tgaaagcctt cagtcccgtg aggtccatta ggaaaaacag cctgttggac caccgcctgg 60
gcattctccca gagcaaaacc ccggtggatg acctgatgag cctgctgtaa 110

10

<210> 41
<211> 486
<212> DNA
<213> Homo sapiens

15

<300>
<302> ID4
<310> Y07958

20

<400> 41
atgaaggcgg tgagcccggg gcgcccctcg ggccgcaagg cgccgtcggg ctgcggcggc 60
ggggagctgg cgctgcgctg cctggccgag cacggccaca gcctgggtgg ctccgcagcc 120
gcggcggcgg cgccggcggc agcgcgctgt aaggcggcgg aggcggcggc cgacgagccg 180
gcgctgtgccc tgcagtgcca tatgaacgac tgctatagcc gcctgcggag gctgggtgcc 240
25 acctatcccgc ccaacaagaa agtcagcaaa gtggagatcc tgcagcacgt tatcgactac 300
atcctggacc tgcagctggc gctggagacg caccggggcc tgctgaggca gccaccaccg 360
cccgcgccgc cacaccacc ggccggggacc tgtccagccg cgccgcccgc gaccccgctc 420
actgcgctca acaccgaccc ggccggcgcg gtgaacaagc agggcgacag cattctgtgc 480
cgctga 486

30

<210> 42
<211> 462
<212> DNA
<213> Homo sapiens

35

<300>
<302> IGF1
<310> NM000618

40

<400> 42
atgggaaaaa tcagcagctc tccaacccaa ttatttaagt gctgcttttg tgatttcttg 60
aagggtgaaga tgcacaccat gtcctcctcg catctcttct acctggcgct gtgcctgctc 120
accttcacca gctctgccac ggctggaccg gagacgctct gcggggctga gctgggtggat 180
45 gctcttcagt tcgtgtgtgg agacaggggc ttttatttca acaagcccac aggggatggc 240
tcagcagtc ggaggcgcc tcagacaggc atcgctggatg agtgctgctt ccggagctgt 300
gatctaagga ggctggagat gtattgcgca cccctcaagc ctgccaaagtc agctcgctct 360
gtccgtgccc agcgccacac cgacatgccc aagaccaga aggaagtaca tttgaagaac 420
gcaagtagag ggagtgcagg aaacaagaac tacaggatgt ag 462

50

<210> 43
<211> 591
<212> DNA
<213> Homo sapiens

55

<300>
<302> PDGFA
<310> NM002607

60

<400> 43
atgaggacct tggcttgccct gctgctcctc ggctgcggat acctcgccca tgttctggcc 60

29/95

```

gaggaagccg agatcccccg cgaggtgata gagaggctgg cccgcagtca gatccacagc 120
atccgggacc tccagcgact cctggagata gactccgtag ggagtgagga ttctttggac 180
accagcctga gagctcacgg ggtccacgcc actaagcatg tgcccagaaa gcggccccctg 240
cccattcgga ggaagagaag catcgaggaa gctgtccccg ctgtctgcaa gaccaggacg 300
5 gtcattttacg agattcctcg gagtcaggtc gacccacgt ccgccaactt cctgatctgg 360
ccccgtgcg tggagggtgaa acgctgcacc ggctgctgca acacgagcag tgtcaagtgc 420
cagccctccc gcgtccacca ccgcagcgtc aagggtggcca aggtggaata cgtcaggaag 480
aagccaaaat taaaagaagt ccaggtgagg ttagaggagc atttgaggatg cgcctgcgcg 540
accacaagcc tgaatccgga ttatcgggaa gaggacacgg atgtgagggtg a 591
10

<210> 44
<211> 528
<212> DNA
15 <213> Homo sapiens

<300>
<302> PDGFRA
<310> XM003568
20

<400> 44
atggccaagc ctgaccacgc taccagtga gttctacgaga tcatggtgaa atgctggaac 60
agtgaagccg agaagagacc ctcccttttac cacttgagtg agattgtgga gaatctgctg 120
cctggacaat ataaaaagag ttatgaaaaa attcacctgg acttcctgaa gagtgaacat 180
25 cctgctgtgg cagcatgctg tgtggactca gacaatgcat acattggtgt cacctacaaa 240
aacgaggaaag acaagctgaa ggactgggag ggtggtctgg atgagcagag actgagcgtc 300
gacagtggct acatcattcc tctgcctgac attgaccctg tccctgagga ggaggacctg 360
ggcaagagga acagacacag ctgcagacac tctgaagaga gtgccattga gacgggttcc 420
agcagttcca cttcatcaa gagagaggac gagaccattg aagacatcga catgatggat 480
30 gacatcggca tagactcttc agacctggtg gaagacagct tcctgtaa 528

<210> 45
<211> 1911
35 <212> DNA
<213> Homo sapiens

<300>
<302> PDGFRB
40 <310> XM003790

<400> 45
atgaggcttc cgggtgcat gccagctctg gccctcaaag gcgagctgct gttgctgtct 60
45 ctccctgttac ttctggaacc acagatctct caggggcctg tctcacacc cccggggcca 120
gagcttgctc tcaatgtctc cagcacctt gttctgacct gctcgggttc agtccgggtg 180
gtgtgggaac ggatgtccca ggagccccca caggaaatgg ccaaggccca ggatggcacc 240
ttctccagcg tctcacact gaccaacctc actgggctag acacgggaga atacttttgc 300
accacaatg actcccgctg actggagacc gatgagcggg aacggctcta catctttgtg 360
ccagatccca ccgtgggctt cctccctaata gatgccgagg aactattcat ctttctcacg 420
50 gaaataactg agatcaccat tccatgccga gtaacagacc cacagctggt ggtgacactg 480
cacgagaaga aaggggacgt tgcactgcct gtcccctatg atcaccaacg tggcttttct 540
ggatctcttg aggacagaag ctacatctgc aaaaccacca ttggggacag ggagggtgat 600
tctgatgcct actatgtcta cagactccag gtgtcatcca tcaacgtctc tgtgaacgca 660
gtgcagactg tgggtccgcca ggtgagaac atcacctca tgtgcatgtg gatcgggaat 720
55 gaggtggtca acttcgagtg gacatacccc cgcaaagaaa gtgggcggct ggtggagccg 780
gtgactgact tcctcttgga tatgccttac cagatccgct ccatcctgca catcccagat 840
gccgagttag aagactcggg gacctacacc tgcaatgtga cggagagtgt gaatgaccat 900
caggatgaaa aggccatcaa catcacctg gttgagagcg gctacgtgcg gctcctggga 960
gaggtgggca cactacaatt tgcctgagct catcggagcc ggacactgca ggtagtgttc 1020
60 gaggcctacc caccgcccac tgcctgtggt ttcaaagaca accgcaccct gggcgactcc 1080
agcgtggcg aatcgcctt gtccacgcgc aacgtgtcgg agaccgggta tgtgtcagag 1140
ctgacactgg ttgcgctgaa ggtggcagag gctggccact acaccatgcg ggccttccat 1200

```

5 gaggatgctg aggtccagct ctccttccag ctacagatca atgtccctgt ccgagtgtg 1260
 gagctaagt agagccaccc tgacagtggg gaacagacag tccgctgtcg tggccggggc 1320
 atgccccagc cgaacatcat ctggtctgcc tgcagagacc tcaaaagggtg tccacgtgag 1380
 ctgccgcccc cgctgctggg gaacagttcc gaagaggaga gccagctgga gactaacgtg 1440
 acgtactggg aggaggagca ggagtgtgag gtggtgagca cactgctct gcagcacgtg 1500
 gatcggccac tgtcgggtgc ctgcacgtcg cgcaacgtg tgggccaagg caccgaggag 1560
 gtcacgtgg tgccacactc cttgcccttt aaggtggtgg tgatctcagc catcctggcc 1620
 ctggtggtgc tcaccatcat ctcccttata atcctcatca tgctttggca gaagaagcca 1680
 10 cgttacgaga tccgatggaa ggtgattgag tctgtgagct ctgacggcca tgagtacatc 1740
 tacgtggacc ccatgcagct gccctatgac tccacgtgg agctgccgcg ggaccagctt 1800
 gtgctgggac gcaccctcgg ctctggggcc tttgggcagg tggtggaagg caccggttcat 1860
 ggcctgagcc attttcaagc cccaatgaaa gtggccgtca aaaatgctta a 1911

15 <210> 46
 <211> 1176
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

20 <300>
 <302> TGFbeta1
 <310> NM000660

25 <400> 46
 atgccgccct ccgggctgcg gctgctgccg ctgctgtctac cgctgctgtg gctactggtg 60
 ctgacgcctg gcccgccggc cgcgggacta tccacctgca agactatcga catggagctg 120
 gtgaagcggg agcgcacatga ggccatccgc ggccagatcc tgtccaagct gcggctcgcc 180
 agcccccgga gccaggggga ggtgccgccg ggcccgctgc ccgaggccgt gctcgccctg 240
 tacaacagca ccgcgacccg ggtggccggg gagagtgcag aaccggagcc cgagcctgag 300
 30 gccgactact acgccaagga ggtcaccgcg gtgctaattg tggaaccaca caacgaaatc 360
 tatgacaagt tcaagcagag tacacacagc atatatatgt tcttcaacac atcagagctc 420
 cgagaagcgg tacctgaacc cgtgttgctc tcccgggcag agctgctct gctgaggagg 480
 ctcaagttaa aagtggagca gcacgtggag ctgtaccaga aatacagcaa caattcctgg 540
 cgatacctca gcaaccggct gctggcacc agcgactcgc cagagtgggt atcttttgat 600
 35 gtcaccggag ttgtgcggca gtggttgagc cgtggagggg aaattgaggg ctttcgcctt 660
 agcgccact gctcctgtga cagcagggat aacacactgc aagtggacat caacgggttc 720
 actaccggcc gccgaggtga cctggccacc attcatggca tgaaccggcc tttcctgctt 780
 ctcatggcca ccccgctgga gagggcccag catctgcaa gctcccggca ccgccagacc 840
 ctggacacca actattgctt cagctccacg gagaagaact gctgctgctg gcagctgtac 900
 40 attgacttcc gcaaggacct cggctggaag tggatccacg agcccaaggg ctaccatgcc 960
 aacttctgcc tcgggccctg cccctacatt tggagcctgg acacgcagta cagcaaggtc 1020
 ctggccctgt acaaccagca taaccggggc gcctcgccgg cgcctgctg cgtgccgcag 1080
 gcgctggagc cgctgcccat cgtgtactac gtgggccgca agcccaaggg ggagcagctg 1140
 tccaacatga tcgtgcgctc ctgcaagtgc agctga 1176

45 <210> 47
 <211> 1245
 <212> DNA
 50 <213> Homo sapiens

<300>
 <302> TGFbeta2
 <310> NM003238

55 <400> 47
 atgcactact gtgtgctgag cgtttttctg atcctgcac tggtcacggg cgcgctcagc 60
 ctgtctacct gcagcacact cgatatggac cagttcatgc gcaagaggat cgaggcgatc 120
 cgcgggcaga tcctgagcaa gctgaagctc accagtcgcc cagaagacta tcctgagccc 180
 60 gaggaagtcc ccccggaggt gatttccatc tacaacagca ccagggaact gctccaggag 240
 aaggcgagcc gggggcgcc gcctgcgag cgcagagga gcgacgaaga gtactacgcc 300
 aaggaggttt acaaaataga catgccgccc ttcttccctt ccgaaaatgc catcccgcgc 360

```

actttctaca gaccctactt cagaattggt cgatttgacg tctcagcaat ggagaagaat 420
gcttccaatt tggtgaaagc agagttcaga gtctttcgtt tgcagaaccc aaaagccaga 480
gtgcctgaac aacggattga gctatatcag attctcaagt ccaaagattt aacatctcca 540
5 acccagcgct acatcgacag caaagttgtg aaaacaagag cagaaggcga atggctctcc 600
tccgatgtaa ctgatgctgt tcatgaatgg cttcaccata aagacaggaa cctgggattt 660
aaaaaagct tacactgtcc ctgctgcact tttgtaccat ctaataatta catcatccca 720
aataaaagtg aagaactaga agcaagattt gcagggtattg atggcacctc cacatatacc 780
agtgggtgatc agaaaactat aaagtccact agggaaaaaa acagtgggaa gaccccacat 840
10 ctccctgctaa tgttattgccc ctccacacaga cttgagtcac aacagaccaa ccggcggaag 900
aagcgtgctt tggatgcggc ctattgcttt agaaatgtgc aggataattg ctgcctacgt 960
ccactttaca ttgatttcaa gagggatcta ggggtggaaat ggatacacga acccaaaggg 1020
tacaatgcc aactctgtgc tggagcatgc ccgtatttat ggagttcaga cactcagcac 1080
agcaggggtcc tgagcttata taataccata aatccagaag catctgcttc tccttgctgc 1140
gtgtcccaag atttagaacc tctaaccatt ctctactaca ttggcaaaac acccaagatt 1200
15 gaacagcttt ctaatatgat tgtaaagtct tgcaaatgca gctaa 1245

<210> 48
<211> 1239
20 <212> DNA
    <213> Homo sapiens

<300>
<302> TGFbeta3
25 <310> XM007417

<400> 48
atgaagatgc acttgcaaag ggctctgggtg gtccctggccc tgctgaactt tgccacgggtc 60
agcctctctc tgtccacttg caccaccttg gacttcggcc acatcaagaa gaagaggggtg 120
30 gaagccatta ggggacagat cttgagcaag ctcagggtca ccagccccc tgagccaacg 180
gtgatgaccc acgtccccta tcaggctctg gccctttaca acagcacccg ggagctgctg 240
gaggagatgc atggggagag ggaggaaggc tgcaaccagg aaaacaccga gtcggaatac 300
tatgccaaag aaatccataa attcgacatg atccaggggc tggcggagca caacgaactg 360
gctgtctgccc ctaaaaggaat tacctccaag gttttccgct tcaatgtgtc ctcagtggag 420
35 aaaaatagaa ccaacctatt ccgagcagaa ttccgggtct tgccgggtgcc caacccacg 480
tctaagcgga atgagcagag gatcgagctc ttccagatcc ttccggccaga tgagcacatt 540
gccaaacagc gctatatcgg tggcaagaat ctgccacac ggggcactgc cgagtggctg 600
tcctttgatg tctactgacac tgtgcgtgag tggctgttga gaagagagtc caacttaggt 660
ctagaaatca gcattcactg tccatgtcac accttccagc ccaatggaga tatcctggaa 720
40 aacattcacg aggtgatgga aatcaaattc aaaggcgtgg acaatgagga tgaccatggc 780
cgtggagatc tggggcgcc cagaagcagc aaggatcacc acaaccctca tctaactctc 840
atgatgatcc cccacacccg gctcgacaac ccgggccagg ggggtcagag gaagaagcgg 900
gctttggaca ccaattactg cttccgcaac ttggaggaga actgctgtgt gcgccccctc 960
tacattgact tccgacagga tctgggctgg aagtgggtcc atgaacctaa gggctactat 1020
45 gccaaacttct gctcaggccc ttgccatac ctccgcagtg cagacacaac ccacagcacg 1080
gtgctggggac tgtacaacac tctgaacctc gaagcatctg cctcgcttg ctgcgtgccc 1140
caggacctgg agccctgac catcctgtac tatgttggga ggaccccaa agtggagcag 1200
ctctccaaca tgggtggtgaa gtcttgtaaa tgtagctga 1239

50 <210> 49
    <211> 1704
    <212> DNA
    <213> Homo sapiens

55 <300>
    <302> TGFbetaR2
    <310> XM003094

60 <400> 49
atgggtcggg ggctgctcag gggcctgtgg ccgctgcaca tcgtcctgtg gacgcgtatc 60
gccagcacga tcccaccgca cggtcagaag tcgggtaata acgacatgat agtcactgac 120

```

```

aacaacggtg cagtcaagtt tccacaactg tgtaaatfff gtgatgtgag attttccacc 180
tgtgacaacc agaaatcctg catgagcaac tgcagcatca cctccatctg tgagaagcca 240
caggaagtct gtgtggctgt atggagaaag aatgacgaga acataaact agagacagtt 300
tgccatgacc ccaagctccc ctaccatgac tttattctgg aagatgctgc ttctccaaag 360
5   tgcattatga aggaaaaaaaa aaagcctggt gagactttct tcatgtgttc ctgtagctct 420
gatgagtgca atgacaacat catctttctca gaagaatata acaccagcaa tcctgacttg 480
ttgctagtca tttttcaagt gacaggcatc agcctcctgc caccactggg agttgccata 540
tctgtcatca tcatcttcta ctgctaccgc gttaaccggc agcagaagct gaggttcaacc 600
tgggaaaccg gcaagacgcg gaagctcatg gaggttcagcg agcactgtgc catcatcctg 660
10  gaagatgacc gctctgacat cagctccacg tgtgccaaca acatcaacca caacacagag 720
ctgctgcccc ttgagctgga caccctgggt ggggaaaggtc gctttgctga ggtctataag 780
gccaaactga agcagaacac ttcagagcag tttgagacag tggcagtcaa gatctttccc 840
tatgaggagt atgcctcttg gaagacagag aaggacatct tctcagacat caatctgaag 900
catgagaaca tactccagtt cctgacggct gaggagcgga agacggagtt ggggaaacaa 960
15  tactggctga tcaccgcctt ccacgccaag ggcaacctac aggagtacct gacgcggcat 1020
gtcatcagct gggaggacct gcgcaagctg ggcagctccc tcgcccgggg gattgctcac 1080
ctccacagtg atcacactcc atgtgggagg cccaagatgc ccatcgtgca cagggacctc 1140
aagagctcca atatcctcgt gaagaacgac ctaacctgct gcctgtgtga ctttgggctt 1200
tccctgcgtc tggaccctac tctgtctgtg gatgacctgg ctaacagtgg gcaggtggga 1260
20  actgcaagat acatggctcc agaagtccta gaatccagga tgaatttgga gaatgttgag 1320
tccttcaagc agaccgatgt ctactccatg gctctgggtg tctgggaaat gacatctcgc 1380
tgtaatgcag tgggagaagt aaaagattat gagcctccat ttggttcaa ggtgcgggag 1440
caccctctgt tcgaaagcat gaaggacaac gtgttgagag atcgagggcg accagaaatt 1500
cccagcttct ggctcaacca ccagggcatc cagatggtgt gtgagacgtt gactgagtgc 1560
25  tgggaccacg acccagaggc ccgtctcaca gccagtggtg tggcagaacg cttcagttag 1620
ctggagcatc tggacaggct ctcggggagg agctgctcgg aggagaagat tcctgaagac 1680
ggctccctaa acactaccaa atag                                     1704

30  <210> 50
    <211> 609
    <212> DNA
    <213> Homo sapiens

35  <300>
    <302> TGFbeta3
    <310> XM001924

    <400> 50
40  atgtctcatt acaccattat tgagaatatt tgtcctaagg atgaatctgt gaaattctac 60
    agtcccaaga gagtgcactt tcctatcccg caagctgaca tggataagaa gcgattcagc 120
    tttgtcttca agcctgtctt caacacctca ctgctctttc tacagtgtga gctgacgctg 180
    tgtacgaaga tggagaagca cccccagaag ttgcctaagt gtgtgcctcc tgacgaagcc 240
    tgacacctgc tggacgcctc gataatctgg gccatgatgc agaataagaa gacgttctact 300
45  aagccccctt ctgtgatcca ccatgaagca gaatctaaag aaaaagggtcc aagcatgaag 360
    gaaccaaata caatttctcc accaattttc catgggtctg acaccctaac cgtgatgggc 420
    attgcgtttg cagcctttgt gatcggagca ctctgacgg gggccttggt gtacatctat 480
    tctcacacag gggagacagc aggaaggcag caagtcccca cctccccgcc agcctcggaa 540
    aacagcagtg ctgcccacag catcggcagc acgcagagca cgccttgctc cagcagcagc 600
50  acggcctag                                     609

    <210> 51
    <211> 3633
55  <212> DNA
    <213> Homo sapiens

    <300>
    <302> EGFR
60  <310> X00588

    <400> 51

```

	atgcgaccct	ccgggacggc	cggggcagcg	ctcctggcgc	tgctggctgc	gctctgcccg	60
	gcgagtcggg	ctctggagga	aaagaaagt	tgccaaggca	cgagtaacaa	gctcacgcag	120
	ttgggacatt	ttgaagatca	ttttctcagc	ctccagagga	tggtcaataa	ctgtgaggtg	180
	gtccttggga	at ttggaaat	tacctatgtg	cagaggaatt	atgatctttc	cttcttaaa	240
5	accatccagg	agggtggctg	ttatgtcttc	attgcoctca	acacagtggg	gcgaattcct	300
	ttggaaaacc	tgcatatcat	cagaggaat	atgtactacg	aaaattccta	tgcttagca	360
	gtcttatcta	actatgatgc	aaataaaacc	ggactgaagg	agctgcccac	gagaaattta	420
	caggaaatcc	tgcatggcgc	cgtgcgggtc	agcaacaacc	ctgcccctgt	caacgtggag	480
	agcatccagt	ggcgggacat	agtcagcagt	gactttctca	gcaacatgtc	gatggacttc	540
10	cagaaccacc	tgggcagctg	ccaaaagtgt	gatccaagct	gtcccaatgg	gagctgctgg	600
	gggtgcaggag	aggagaactg	ccagaaaactg	accaaaatca	tctgtgcccc	gcagtgtctc	660
	gggctgctgc	gtggcaagtc	ccccagtgac	tgctgccaca	accagtgtgc	tgcaaggctg	720
	acaggccccc	gggagagcga	ctgcoctggc	tgccgcaaat	tccgagacga	agccacgtgc	780
	aaggacacct	gccccccact	catgctctac	aacccccacca	cgtaccagat	ggatgtgaac	840
15	cccagaggga	aatacacgctt	tggtgccacc	tgctgaaga	agtgtccccg	taattatgtg	900
	gtgacagatc	acggctcgtg	cgtccgagcc	tggtggggccg	acagctatga	gatggaggaa	960
	gacggcgtcc	gcaagtgtaa	gaagtgcgaa	gggccttgcc	gcaaagtgtg	taacggata	1020
	ggatattggtg	aatttaaaaga	ctcactctcc	ataaatgcta	cgaatattaa	acacttcaaa	1080
	aactgcacct	ccatcagtg	cgatctccac	atcctgccc	tggtcatatg	gggtgactcc	1140
20	ttcacacata	ctcctcctct	ggatccacag	gaactggata	ttctgaaaac	cgtaaaggaa	1200
	atcacagggt	ttttgctgat	tcaggcttgg	cctgaaaaca	ggacggacct	ccatgccttt	1260
	gagaacctag	aaatcatac	cggcaggacc	aagcaacatg	gtcagttttc	tcttgagctt	1320
	gtcagcctga	acataacatc	cttgggatta	cgctccctca	aggagataag	tgatggagat	1380
	gtgataat	caggaaacaa	aaatttgtgc	batgcaaaata	caataaactg	gaaaaaactg	1440
25	tttgggacct	ccggtcagaa	aacccaaatt	ataagcaaca	gaggtgaaaa	cagctgcaag	1500
	gccacaggcc	aggctctgcca	tgcttctgtg	tcccccgagg	gctgctgggg	cccggagccc	1560
	agggactgcg	tctcttgccg	gaatgtcagc	cgaggcagg	aatgctgga	caagtgcagg	1620
	cttctggagg	gtgagccaag	ggagtttgtg	gagaactctg	agtgcataca	gtgccaccca	1680
	gagtgcctgc	ctcaggccat	gaacatcacc	tgacagggac	ggggaccaga	caactgtatc	1740
30	cagtgtgccc	actacattga	cggccccccac	tgctcaaga	cctgcccggc	aggagtcatg	1800
	ggagaaaaca	acaccctggt	ctggaagtac	gcagacgccg	gccatgtgtg	ccacctgtgc	1860
	catccaaact	gcacctacgg	atgcactggg	ccaggctctg	aaggctgtcc	aacgaaatgg	1920
	cctaagatcc	cgtccatcgc	cactgggatg	gtggggggcc	tctcttctgt	gctggtggtg	1980
	gccctgggga	tcggcctctt	catgcgaagg	cgcacatcgc	ttcggaagcg	cacgctgcgg	2040
35	aggctgctgc	aggagaggga	gcttgtggag	cctcttacac	ccagtggaga	agctcccaac	2100
	caagctctct	tgaggatctt	gaaggaaact	gaattcaaaa	agatcaaagt	gctgggctcc	2160
	ggtgcgttcg	gcacggtgta	taagggactc	tggtatcccag	aagggtgagaa	agttaaaatt	2220
	cccgctcgcta	tcaaggaatt	aagagaagca	acatctccga	aagccaacaa	ggaaatcctc	2280
	gatgaagcct	acgtgatggc	cagcgtggac	aacccccacg	tgtgccgctt	gctgggcac	2340
40	tgctccacct	ccaccgtgca	actcatcacg	cagctcatgc	ccttcggctg	cctcctggac	2400
	tatgtccggg	aacacaaaga	caatattggc	tcccagtacc	tgctcaactg	gtgtgtgcag	2460
	atcgcaaaag	gcatgaacta	cttggaggac	ctcgcttgg	tgaccgcga	cctggcagcc	2520
	aggaacgtac	gggtgaaaac	accgcagcat	gtcaagatca	cagatttttg	gctggccaaa	2580
	ctgctgggtg	cggaagagaa	agaataccat	gcagaaggag	gcaaagtgcc	tatcaagtgg	2640
45	atggcattgg	aatcaatttt	acacagaatc	tatacccacc	agagtgtatg	ctggagctac	2700
	ggggtgaccg	tttgggagtt	gatgaccttt	ggatccaagc	catatgacgg	aatccctgcc	2760
	agcgagatct	cctccatcct	ggagaaagga	gaacgcctcc	ctcagccacc	catatgtacc	2820
	atcgatgtct	acatgatcat	ggtcaagtgc	tggtgatag	acgcagatag	tcgccccaa	2880
	ttccgtgagt	tgatcatoga	attctccaaa	atggcccag	acccccagcg	ctacctgtgc	2940
50	attcaggggg	atgaaagaat	gcatttggca	agtctacag	actccaactt	ctaccgtgcc	3000
	ctgatggatg	aagaagacat	ggacgacgtg	gtggatgccg	acgagtacct	catcccacag	3060
	cagggcttct	tcacagccc	ctccacgtca	cggactcccc	tcctgagctc	tctgagtcca	3120
	accagcaaca	attccaccgt	ggcttgcat	gatagaaatg	ggctgcaaa	ctgtcccatc	3180
	aaggaagaca	gcttcttgca	gcgatacagc	tcagacccca	caggcgctct	gactgaggac	3240
55	agcatagacg	acaccttctc	cccagtgcct	gaatacataa	accagtccgt	tcccaaaagg	3300
	cccgtgggct	ctgtgcagaa	tctgtctat	cacaatcagc	ctctgaaccc	cgcgcccagc	3360
	agagacccac	actaccagga	ccccacagc	actgcagtgg	gcaaccccca	gtatctcaac	3420
	actgtccagc	ccacctgtgt	caacagcaca	tctgcagacc	ctgcccactg	ggcccagaaa	3480
	ggcagccacc	aaattagcct	ggacaacctt	gactaccagc	aggacttctt	tcccaaggaa	3540
60	gccaaagccaa	atggcatctt	taagggtctc	acagctgaaa	atgcagaata	cctaagggtc	3600
	gcgcccacaaa	gcagtgaatt	tattggagca	tga			3633

<210> 52
<211> 3768
<212> DNA
5 <213> Homo sapiens

<300>
<302> ERBB2
<310> NM004448

10 <400> 52
atggagctgg cgcccttgtg ccgctggggg ctccctctcg cctctcttgc ccccgagacc 60
gcgagcacc aagtgtgcac cggcacagac atgaagctgc ggctccctgc cagtcccgag 120
accacacctg acatgctccg ccacctctac cagggctgcc aggtggtgca gggaaacctg 180
15 gaactcacct acctgcccac caatgccagc ctgtccttcc tgcaggatat ccaggaggtg 240
cagggctacg tgctcatcgc tcacaaccaa gtgaggcagg tcccactgca gaggctgcgg 300
attgtgctga gcacccagct ctttgaggac aactatgccc tggccgtgct agacaatgga 360
gaccgctga acaataccac ccctgtcaca ggggcctccc caggaggcct gcgggagctg 420
cagcttcgaa gcctcacaga gatcttgaaa ggaggggtct tgatccagcg gaacccccag 480
20 ctctgtctac aggacacgat tttgtggaag gacatcttcc acaagaacaa ccagctggct 540
ctcacactga tagacaccaa ccgctctcgg gcctgccacc cctgttctcc gatgtgtaag 600
ggctcccgtc gctggggaga gagttctgag gattgtcaga gcctgacgcy cactgtctgt 660
gccggtggct gtgcccgtg caaggggcca ctgcccactg actgctgcca tgagcagtgt 720
gctgccggct gcacggggccc caagcactct gactgcctgg cctgcctcca cttcaaccac 780
25 agtggcatct gtgagctgca ctgcccagcc ctggctaccc acaacacaga caggtttgag 840
tccatgcccc atcccagagg ccggtatata ttccggcgcca gctgtgtgac tgcctgtccc 900
tacaactacc tttctacgga cgtgggatcc tgcacctcg tctgccccct gcacaaccaa 960
gaggtgacag cagaggatgg aacacagcgg tgtgagaagt gcagcaagcc ctgtgcccga 1020
gtgtgctatg gtctgggcat ggagcacttg cgagaggatga gggcagttac cagtgcacat 1080
30 atccaggagt ttgctggctg caagaagatc tttgggagcc tggcatttct gccggagagc 1140
tttgatgggg acccagcctc caacactgcc ccgctccagc cagagcagct ccaagtgttt 1200
gagactctgg aagagatcac aggttaccta tacatctcag catggccgga cagcctgcct 1260
gacctcagcg tcttccagaa cctgcaagta atccggggac gaattctgca caatggcgcc 1320
tactcgctga cctgcaagg gctgggcatc agctggctgg ggctgcgctc actgagggaa 1380
35 ctgggcagtg gactggccct catccaccat aacaccacc tctgcttctg gcacacggtg 1440
ccctgggacc agctctttcg gaaccgcac caagctctgc tccacactgc caaccggcca 1500
gaggacgagt gtgtggcgga gggcctggcc tggcaccagc tgtgcgcccg agggcactgc 1560
tggggtccag ggcccaccca gtgtgtcaac tgcagccagt tcttccgggg ccaggagtgc 1620
gtggaggaat gccagtgact gcaggggctc cccagggagt atgtgaatgc caggcactgt 1680
40 ttgctgctgc accctgagtg tcagcccag aatggctcag tgacctgttt tggaccggag 1740
gctgaccagt gtgtggcctg tgcccactat aaggaccctc ctttctgctg gcccgctgag 1800
cccagcggtg tgaaacctga cctctcctac atgccatct ggaagtttcc agatgagtg 1860
ggcgcatgcc agccttgccc catcaactgc acccactcct gtgtggacct ggatgacaag 1920
ggctgccccg ccgagcagag agccagccct ctgacgtcca tctgtctctg ggtggttggc 1980
45 attctgctgg tctgtgtctt ggggggtggtc tttgggatcc tcatcaagcg acggcagcag 2040
aagatccgga agtacacgat gcggagactg ctgcaggaaa cggagctggt ggagccgctg 2100
acacctagcg gagcgtatgcc caaccaggcg cagatgcgga tcttgaaaga gacggagctg 2160
aggaaggatga aggtgcttgg atctggcgct tttggcacag tctacaaggg catctggatc 2220
cctgatgggg agaattgtgaa aattccagtg gccatcaaag tgttgaggga aaacacatcc 2280
50 cccaaagcca acaaaagaaat cttagacgaa gcatactgta tggctgggtgt gggctcccc 2340
tatgtctccc gccttctggg catctgcctg acatccacgg tgcagctggt gacacagctt 2400
atgacctatg ctgacctctt agaccatgtc cgggaaaacc gcggacgcct gggctcccag 2460
gacctgctga actggtgtat gcagattgcc aaggggatga gctacctgga ggatgtgcgg 2520
ctctgtacaca gggacttggc cgctcggaac gtgctgtgca agagtcccaa ccatgtcaaa 2580
55 attacagact tcgggctggc tcggctgctg gacattgacg agacagagta ccatgcagat 2640
gggggcaagg tgcccataca gtggatggcg ctggagtcca ttctccgccc gcgggttcacc 2700
caccagagtg atgtgtggag ttatggtgtg actgtgtggg agctgatgac ttttggggcc 2760
aaaccttacg atgggatccc agcccgggag atccctgacc tgctggaaaa gggggagcgg 2820
ctgcccacgc ccccatctg caccattgat gtctacatga tcatgggtcaa atgttggtg 2880
60 attgactctg aatgtcgggc aagattccgg gagttggtgt ctgaattctc ccgcatggcc 2940
agggaccccc agcgctttgt ggtcatccag aatgaggact tggggccagc cagtcccttg 3000
gacagcacct tctaccgctc actgctggaag gacgatgaca tgggggacct ggtggatgct 3060

5 gagagagtatc tggtagccca gcagggttcc ttctgtccag accctgcccc gggcgctggg 3120
 ggcattggtcc accacaggca ccgcagctca tctaccagga gtggcggtgg ggacctgaca 3180
 ctagggctgg agccctctga agaggaggcc cccagggtct cactggcacc ctccgaaggg 3240
 gctggctccg atgtatttga tggtagcctg ggaatggggg cagccaaggg gctgcaaagc 3300
 10 ctccccacac atgaccccag ccctctacag cggtagagtg aggacccac agtaccctg 3360
 ccctctgaga ctgatggcta cgttgcccc ctgacctgca gccccagcc tgaatatgtg 3420
 aaccagccag atgttcggcc ccagccccct tgcctccgag agggccctct gctgctgcc 3480
 cgacctgctg gtgacctct ggaaagggcc aagactctct cccagggaa gaatggggtc 3540
 gtcaaagacg tttttgcctt tgggggtgcc gtggagaacc ccgagtactt gacaccccag 3600
 15 ggaggagctg ccctcagcc ccaccctcct cctgccttca gccagcctt cgacaacctc 3660
 tattactggg accaggaccc accagagcgg ggggctccac ccagcacctt caaagggaca 3720
 cctacggcag agaaccaga gtacctgggt ctggacgtgc cagtgtga 3768

15 <210> 53
 <211> 1986
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

20 <300>
 <302> ERBB3
 <310> XM006723

25 <400> 53
 atgcacaact tcagtgtttt ttccaatttg acaaccattg gaggcagaag cctctacaac 60
 cggggcttct cattgttgat catgaagaac ttgaatgtca catctctggg cttccgatcc 120
 ctgaaggaaa ttagtgctgg gcgtatctat ataagtcca ataggcagct ctgctaccac 180
 cactctttga actggaccaa ggtgcttcgg gggcctacgg aagagcgact agacatcaag 240
 30 cataatcggc cgcgagaga ctgcgtggca gagggcaaaag tgtgtgacct actgtgctcc 300
 tctgggggat gctggggccc aggcctggt cagtgttgt cctgtcgaaa ttatagccga 360
 ggaggtgtct gtgtgacca ctgcaacttt ctgaatggg agcctcgaga atttgcccat 420
 gaggccgaat gcttctcctg ccaccggaa tgccaacca tggagggcac tgccacatgc 480
 aatggctcgg gctctgatac ttgtgtcaa tgtgccatt ttcgagatgg gccccactgt 540
 gtgagcagct gccccatgg agtcttaggt gccaggggcc caatctacaa gtaccagat 600
 35 gttcagaatg aatgtcggcc ctgccatgag aactgcaccc aggggtgtaa aggaccagag 660
 cttcaagact gtttaggaca aacactgggt ctgtaggca aaaccatct gacaatggct 720
 ttgacagtga tagcaggatt ggtagtgtt ttcatgatgc tgggcggcac ttttctctac 780
 tggcgtgggc gccggattca gaataaaagg gctatgaggc gatacttga acggggtgag 840
 agcatagagc ctctggacce cagtgaagag gctaacaaag tcttgccag aatcttcaaa 900
 40 gagacagagc taaggaaagt taaagtgtct ggctcgggtg tctttggaac tgtgcacaaa 960
 ggagtgtgga tccctgaggg tgaatcaatc aagattccag tctgcattaa agtcattgag 1020
 gacaagagtg gacggcagag ttttcaagct gtgacagatc atatgctggc cattggcagc 1080
 ctggaccatg cccacattgt aaggctgctg ggactatgcc cagggtcatc tctgcagctt 1140
 gtcactcaat atttgctctt gggttctctg ctggatcatg tgagacaaca ccggggggca 1200
 45 ctggggccac agctgctgct caactgggga gtacaaattg ccaagggaat gtactacctt 1260
 gaggaacatg gtatggtgca tagaaacctg gctgcccga acgtgctact caagtcacc 1320
 agtcaggttc aggtggcaga ttttggtgtg gctgacctgc tgccctctga tgataagcag 1380
 ctgctataca gtgaggcaa gactccaatt aagtggatgg cccttgagag tatccacttt 1440
 gggaaataca cacaccagag tgatgtctgg agctatggtg tgacagtgtt ggagttgatg 1500
 50 accttcgggg cagagcccta tgcagggcta cgattggctg aagtaccaga cctgctagag 1560
 aagggggagc gggttgacac gccccagatc tgcacaattg atgtctacat ggtgatggtc 1620
 aagtgttggg ttttgatga gaacattcgc ccaaccttta aagaactagc caatgagttc 1680
 accaggatgg cccgagaccc accacggtat ctggtcataa agagagagag tgggccttga 1740
 atagcccctg ggccagagcc ccatggtctg acaaacaaga agctagagga agtagagctg 1800
 55 gagccagaac tagacctaga cctagacttg gaagcagagg aggacaacct ggcaaccacc 1860
 acactgggct ccgcccctag cctaccagtt ggaacactta atcgccacg tggggccag 1920
 agccttttaa gtccatcatc tggatacatg cccatgaacc agggtaattct tggggttctt 1980
 ccttag 1986

60 <210> 54
 <211> 1437

<212> DNA
<213> Homo sapiens

<300>
5 <302> ERBB4
<310> XM002260

<400> 54
10 atgatgtacc tgggaagaaag acgactcggt catcgggatt tggcagcccg taatgtctta 60
gtgaaatctc caaaccatgt gaaaatcaca gattttgggc tagccagact cttggaagga 120
gatgaaaaag agtacaatgc tgatggagga aagatgccaa ttaaatggat ggctctggag 180
tgtatacatt acaggaaatt caccatcag agtgacgttt ggagctatgg agttactata 240
tgggaactga tgaccttttg aggaaaaccc tatgatggaa ttccaacgcg agaaatccct 300
gatttattag agaaaggaga acgtttgcct cagcctccca tctgcactat tgacgtttac 360
15 atgggtcatgg tcaaagtgtg gatgattgat gctgacagta gacctaaatt taaggaactg 420
gctgctgagt tttcaaggat ggctcgagac cctcaaagat acctagtatt tcagggtgat 480
gatcgtatga agcttcccag tccaaatgac agcaagttct ttcagaatct cttggatgaa 540
gaggattttg aagatatgat ggatgctgag gactacttgg tccctcaggc tttcaacatc 600
ccacctccca tctatacttc cagagcaaga attgactcga ataggagtga aattggacac 660
20 agccctcctc ctgcctacac ccccatgtca ggaaaccagt ttgtataccg agatggagggt 720
tttgcctgctg aacaaggagt gtctgtgccc tacagagccc caactagcac aattccagaa 780
gctcctgtgg cacagggtgc tactgtctgag atttttgatg actcctgctg taatggcacc 840
ctacgcaagc cagtggcacc ccattgtccaa gaggacagta gcaccagag gtacagtgtc 900
gacccaccg tgtttgcccc agaacggagc ccacgaggag agctggatga ggaagggtac 960
25 atgactccta tgcgagacaa acccaacaa gaatacctga atccagtga ggagaacctt 1020
tttgtttctc ggagaaaaaa tggagacctt caagcattgg ataatcccga atatcacaat 1080
gcatccaatg gtccacccaa ggccgaggat gagtatgtga atgagccact gtacctcaac 1140
acctttgcca acaccttggg aaaagctgag tacctgaaga acaacatact gtcaatgcca 1200
gagaaggcca agaaagcgtt tgacaacctt gactactgga accacagcct gccacctcgg 1260
30 agcacccttc agcaccaga ctactgcag gactacagca caaaatattt ttataaacag 1320
aatggcgcca tcgggcctat tgtggcagag aatcctgaat acctctctga gttctcctg 1380
aagccaggca ctgtgctgcc gcctccacct tacagacacc ggaatactgt ggtgtaa 1437

<210> 55
<211> 627
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<300>
40 <302> FGF10
<310> NM004465

<400> 55
45 atgtggaaat ggatactgac acattgtgcc tcagcctttc cccacctgcc cggctgctgc 60
tgctgctgct ttttgttgct gttcttggtg tcttccgtcc ctgtcacctg ccaagccctt 120
ggtcaggaca tgggtgtcacc agaggccacc aactctctt cctcctcctt ctcctctcct 180
tccagcgcgg gaaggcatgt gcggagctac aatcacctc aaggagatgt ccgctggaga 240
aagctattct ctttcaccaa gtactttctc aagattgaga agaacgggaa ggtcagcggg 300
50 accaagaagg agaactgccc gtacagcatc ctggagataa catcagtaga aatcggagtt 360
gttggcgcca aagccattaa cagcaactat tacttagcca tgaacaagaa ggggaaactc 420
tatggctcaa aagaatttaa caatgactgt aagctgaagg agaggataga ggaaaatgga 480
tacaatacct atgcatcatt taactggcag cataatggga ggcaaatgta tgtggcattg 540
aatggaaaag gagctccaag gagaggacag aaaacacgaa ggaaaaacac ctctgctcac 600
55 tttcttccaa tgggtgtaca ctcatag 627

<210> 56
<211> 679
60 <212> DNA
<213> Homo sapiens

<300>
<302> FGF11
<310> XM008660

5 <400> 56
aatggcggcg ctggccagta gcctgatccg gcagaagcgg gaggtccgag agccccgggg 60
cagccggccg gtgtcggcgc agcggcgcggt gtgtccccgc ggcaccaagt ccctttgcca 120
gaagcagctc ctcacccctg tgtccaaggt gcgactgtgc gggggggcggc ccgcgcggcc 180
ggaccgcggc cgggagcctc agctcaaagg catcgtcacc aaactgttct gccgccaggg 240
10 tttctacctc caggcgaatc ccgacggaag catccagggc accccagagg ataccagctc 300
cttcacccac ttcaacctga tccctgtggg cctccgtgtg gtcaccatcc agagcgccaa 360
gctgggtcac tacatggcca tgaatgctga gggactgtct tacagtctgc cgcatttcac 420
agctgagtgt cgctttaagg agtgtgtctt tgagaattac tacgtcctgt acgcctctgc 480
tctctaccgc cagcgtcgtt ctggccgggc ctggtacctc ggcctggaca aggaggggcca 540
15 ggtcatgaag ggaaaccgag ttaagaagac caaggcagct gccactttc tgcccaagct 600
cctggagggtg gccatgtacc aggagccttc tctccacagt gtccccgagg cctccccctc 660
cagtccccct gccccctga 679

20 <210> 57
<211> 732
<212> DNA
<213> Homo sapiens

25 <300>
<302> FGF12
<310> NM021032

30 <400> 57
atggctgcgg cgatagccag ctccttgatc cggcagaagc ggcaggcgag ggagtccaac 60
agcgaccgag tgtcggcctc caagcgccgc tccagcccca gcaaagacgg gcgctccctg 120
tgcgagaggc acgtcctcgg ggtgttcagc aaagtgcgct tctgcagcgg ccgcaagagg 180
ccggtgaggc ggagaccaga accccagctc aaagggattg tgacaagggt attcagccag 240
cagggatact tcttcgagat gcacccagat ggtaccattg atggggacca ggacgaaaac 300
35 agcgactaca ctctcttcaa tctaattccc gtgggcctgc gtgtagtggc catccaagga 360
gtgaaggcta gcctctatgt ggccatgaat ggtgaaggct atctctacag ttcagatggt 420
ttcactccag aatgcaaatt caaggaatct gtgtttgaaa actactatgt gatctattct 480
tccacactgt accgccagca agaatcaggc cgagcttggt ttctgggact caataaagaa 540
ggtcaaatta tgaaggggaa cagagtgaag aaaaccaagc cctcatcaca ttttgtaccg 600
40 aaacctattg aagtgtgtat gtacagagaa ccatcgctac atgaaattgg agaaaaacaa 660
gggcgttcaa ggaaaagtgc tgaacacca accatgaatg gaggcaaagt tgtgaatcaa 720
gattcaacat ag 732

45 <210> 58
<211> 738
<212> DNA
<213> Homo sapiens

50 <300>
<302> FGF13
<310> XM010269

55 <400> 58
atggcggcgg ctatcgccag ctcgctcatc cgtcagaaga ggcaagcccg cgagcgcgag 60
aaatccaacg cctgcaagtg tgtcagcagc ccagcaaaag gcaagaccag ctgcgacaaa 120
aacaagttaa atgtcttttc ccgggtcaaa ctcttcggct ccaagaagag gcgcagaaga 180
agaccagagc ctcagcttaa ggtatagtt accaagctat acagccgaca aggctaccac 240
ttgcagctgc aggcggatgg aaccattgat ggaccaaag atgaggacag cacttacact 300
60 ctgtttaacc tcatccctgt ggtctgcga gtggtggcta tccaaggagt tcaaaccaag 360
ctgtacttgg caatgaacag tgagggatac ttgtacacct cggaactttt cacacctgag 420
tgcaaattca aagaatcagt gtttgaaaaa tattatgtga catattcatc aatgatatac 480

cgtcagcagc agtcagggcc aggggtggtat ctgggtctga acaaagaagg agagatcatg 540
 aaaggcaacc atgtgaagaa gaacaagcct gcagctcatt ttctgcctaa accactgaaa 600
 gtggccatgt acaaggagcc atcactgcac gatctcacgg agttctccc atctggaagc 660
 gggaccccaa ccaagagcag aagtgtctct ggcgtgctga acggaggcaa atccatgagc 720
 5 cacaatgaat caacgtag 738

<210> 59
 <211> 624
 10 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<300>
 <302> FGF16
 15 <310> NM003868

<400> 59
 atggcagagg tggggggcgt cttcgccctcc ttggactggg atctacacgg cttctcctcg 60
 tctctgggga acgtgccctt agctgactcc ccagggtttcc tgaacgagcg cctgggccaa 120
 20 atcgagggga agctgcagcg tggctcacc acagacttcc cccacctgaa ggggatcctg 180
 cggcgccgcc agctctactg ccgcaccggc ttccacctgg agatcttccc caacggcacg 240
 gtgcacggga cccgccacga ccacagccgc ttccggaatcc tggagtttat cagcctggct 300
 gtggggctga tcagcatccg gggagtggac tctggcctgt acctaggaat gaatgagcga 360
 ggagaactct atgggtcgaa gaaactcaca cgtgaatgtg tttccggga acagtgtgaa 420
 25 gaaaactggt acaacaccta tgcctcaacc ttgtacaaac attcggactc agagagacag 480
 tattacgtgg ccctgaacaa agatggctca cccggggagg gatacaggac taaacgacac 540
 cagaaattca ctacttttt acccaggcct gtagatcctt ctaagttgcc ctccatgtcc 600
 agagacctct ttcactatag gtaa 624

30 <210> 60
 <211> 651
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

35 <300>
 <302> FGF17
 <310> XM005316

40 <400> 60
 atgggagccg cccgcctgct gcccaacctc actctgtgct tacagctgct gattctctgc 60
 tgtcaaaactc agggggagaa tcacccgtct cctaatttta accagtacgt gagggaccag 120
 ggcgccatga ccgaccagct gagcaggcgg cagatccgcg agtaccact ctacagcagg 180
 45 accagtggca agcacgtgca ggtcaccggg cgtcgcatct ccgccaccgc cgaggacggc 240
 aacaagtttg ccaagctcat agtggagacg gacacgtttg gcagccgggt tcgcatcaaa 300
 ggggctgaga gtgagaagta catctgtatg acaaagagg gcaagctcat cgggaagccc 360
 agcgggaaga gcaaagactg cgtgttcacg gagatcgtgc tggagaacaa ctatacggcc 420
 ttccagaacg cccggcacga gggctggttc atggccttca cgcggcaggg gcggcccccgc 480
 caggcttccc gcagccgcca gaaccagcgc gaggccact tcatcaagcg cctctaccaa 540
 50 ggccagctgc ccttccccaa ccacgccgag aagcagaagc agttcgagtt tgtgggctcc 600
 gccccaccc gccggaccaa gcgcacacgg cggccccagc ccctcacgta g 651

55 <210> 61
 <211> 624
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

60 <300>
 <302> FGF18
 <310> AF075292

<400> 61
 atgtattcag cgccctccgc ctgcacttgc ctgtgtttac acttctctgct gctgtgcttc 60
 caggtacagg tgctggttgc cgaggagaac gtggacttcc gcatccacgt ggagaaccag 120
 acgcggtc gggacgatgt gagccgtaag cagctgcggc tgtaccagct ctacagccgg 180
 5 accagtggga aacacatcca ggtcctgggc cgcaggatca gtgcccgcg cgaggatggg 240
 gacaagtatg cccagctcct agtggagaca gacaccttcg gtagtcaagt ccggatcaag 300
 ggcaaggaga cggaattcta cctgtgcatg aaccgcaaag gcaagctcgt ggggaagccc 360
 gatggcacca gcaaggagtg tgtgttcatc gagaagggtc tggagaacaa ctacacggcc 420
 ctgatgtcgg ctaagtactc cggtgtgtac gtgggcttca ccaagaaggg gcggcccgcg 480
 10 aagggcccca agaccggga gaaccagcag gacgtgcatt tcatgaagcg ctaccccaag 540
 gggcagccgg agcttcagaa gcccttcaag tacacgacgg tgaccaagag gtcccgtcgg 600
 atccggccca cacacctgc ctag 624

15 <210> 62
 <211> 651
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

20 <300>
 <302> FGF19
 <310> AF110400

<400> 62
 25 atgctggagcg ggtgtgtggt ggtccacgta tggatcctgg ccggcctctg gctggccgtg 60
 gccgggcgcc ccctcgccct ctccggacgcg gggccccacg tgcactacgg ctggggcgac 120
 cccatccgcc tgcggcacct gtacacctcc ggccccacg ggctctccag ctgcttccctg 180
 cgcctccgtg ccgacggcgt cgtggactgc gcgcggggcc agagcgcgca cagtctgctg 240
 gagatcaagg cagtcgctct gcggaccgtg gccatcaagg gcgtgcacag cgtgcgggtac 300
 30 ctctgcatgg gcgcccacgg caagatgcag gggtgtcttc agtactcgga ggaagactgt 360
 gctttcgagg aggagatccg ccagatggc tacaatgtgt accgatccga gaagcaccgc 420
 ctcccggctc ccctgagcag tgccaaacag cggcagctgt acaagaacag aggccttctt 480
 ccaactcttc atttctgccc catgctgccc atgggtccag aggagcctga ggacctcagg 540
 ggccacttgg aatctgacat gttctcttcg cccctggaga ccgacagcat ggacctattt 600
 35 gggcttgtca ccggactgga ggccgtgagg agtcccagct ttgagaagta a 651

<210> 63
 <211> 468
 40 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 63
 45 atggctgaag gggaaatcac caccttcaca gccctgaccg agaagtttaa tctgcctcca 60
 gggaattaca agaagcccaa actcctctac tgtagcaacg ggggccactt cctgaggatc 120
 cttccggatg gcacagtgga tgggacaagg gacaggagcg accagcacat tcagctgcag 180
 ctccagtgcg aaagcgtggg ggaggtgtat ataaagagta ccgagactgg ccagtacttg 240
 gccatggaca ccgacgggct tttatacggc tcacagacac caaatgagga atgtttgttc 300
 ctggaaaggc tggaggagaa ccattacaac acctatatat ccaagaagca tgcagagaag 360
 50 aattgggttg ttggcctcaa gaagaatggg agctgcaaac gcggtcctcg gactcactat 420
 ggcagaaaag caatcttgtt tctccccctg ccagctctct ctgattaa 468

<210> 64
 55 <211> 636
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<300>
 60 <302> FGF20
 <310> NM019851

5 <400> 64
 atgggtccct tagccgaagt cgggggcttt ctgggcgggc tggagggctt gggccagcag 60
 gtgggttcgc atttcctgtt gcctcctgcc ggggagcggc cgccgctgct gggcgagcgc 120
 aggagcgcgg cggagcggag cgcccgcggc gggccggggg ctgcgcagct ggcgcacctg 180
 caccgcatcc tgcgcgcggc gcagctctat tgccgcaccg gcttccacct gcagatccctg 240
 cccgacggca gcgtgcaggg caccggcgag gaccacagcc tcttcgggtat cttggaattc 300
 atcagtgtgg cagtgggact ggtcagtatt agagggtgtg acagtggctc ctatcttggg 360
 atgaatgaca aaggagaact ctatggatca gagaaactta cttccgaatg catcttttagg 420
 gagcagtttg aagagaactg gtataacacc tattcatcta acatatataa acatggagac 480
 10 actggccgca ggtattttgt ggcacttaac aaagacggaa ctccaagaga tggcgccagg 540
 tccaagaggc atcagaaatt tacacatttc ttacctagac cagtggatcc agaaaagagt 600
 ccagaattgt acaaggacct actgatgtac acttga 636

15 <210> 65
 <211> 630
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

20 <300>
 <302> FGF21
 <310> XM009100

25 <400> 65
 atggactcgg acgagaccgg gtctcagcac tcaggactgt gggtttctgt gctggctggg 60
 cttctgctgg gagcctgcca ggcacacccc atccctgact ccagtccctc cctgcaattc 120
 gggggccaag tccggcagcg gtacctctac acagatgatg ccagcagac agaagcccac 180
 ctggagatca gggaggatgg gacggtgggg ggcgctgctg accagagccc cgaaagtctc 240
 ctgcagctga aagccttgaa gccgggaggtt attcaaactt tgggagtcaa gacatccagg 300
 30 ttctctgtgcc agcggccaga tggggccctg tatggatcgc tccactttga ccctgaggcc 360
 tgcagcttcc gggagctgct tcttgaggac ggatacaatg tttaccagtc cgaagcccac 420
 ggcctcccgc tgcacctgcc agggaacaag tccccacacc gggaccctgc accccgagga 480
 ccagctcgct tcttgccact accaggcctg ccccccgac tcccggagcc acccggaatc 540
 ctggcccccc agcccccca tgtgggctcc tcggaccctc tgagcatggg gggaccttcc 600
 35 cagggccgaa gccccagcta cgcttccctga 630

40 <210> 66
 <211> 513
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

45 <300>
 <302> FGF22
 <310> XM009271

50 <400> 66
 atgcgcgcgc gcctgtgggt gggcctggcc tggctgctgc tggcgcgggc gccggacgcc 60
 gcgggaaccc cgagcgcgct gcggggaccg cgcagctacc cgcacctgga gggcgacgtg 120
 cgctggcggc gcctcttctc ctccactcac ttcttctgct gcgtggatcc cggcgggcgc 180
 gtgcagggca cccgctggcg ccacggccag gacagcatcc tggagatccg ctctgtacac 240
 gtgggcgctc tggctcatca agcagtgtcc tcaggcttct acgtggccat gaaccgcccg 300
 ggccgcctct acgggtcgcg actctacacc gtggactgca ggttccggga gcgcatcgaa 360
 gagaacggcc acaacaccta cgcctcacag cgctggcgcc gccgcggcca gcccatgttc 420
 55 ctggcgctgg acaggagggg ggggccccgg ccaggcgggc ggacgcggcg gtaccacctg 480
 tccgcccact tcttgcccggt cctggtctcc tga 513

60 <210> 67
 <211> 621
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<300>
<302> FGF4
<310> NM002007

5
<400> 67
atgtcggggc ccggggacggc cgcggtagcg ctgctcccgg cggtcctgct ggccttgctg 60
gcgccctggg cgggcccagag gggcgccgccc gcacccactg caccacaacgg cacgctggag 120
gccgagctgg agcgccgctg ggagagccctg gtggcgctct cgttggcgcg cctgccggtg 180
10 gcagcgcagc ccaaggaggc ggccgtccag agcggcgccg gcgactacct gctggggcatc 240
aagcgggctgc ggcggtctta ctgcaacgtg ggcatcggct tccacctcca ggcgctcccc 300
gacggccgca tcggcgggcg gcacgcggac acccgcgaca gcctgctgga gctctcgccc 360
gtggagcggg gcgtggtgag catcttcggc gtggccagcc ggttcttcgt ggccatgagc 420
agcaagggca agctctatgg ctgcaccttc ttcaccgatg agtgcacgtt caaggagatt 480
15 ctctctccca acaactacaa cgcctacgag tctacaagt acccgggcat gttcatcgcc 540
ctgagcaaga atgggaagac caagaagggg aaccgagtgt cgcccacat gaaggtcacc 600
cacttctctc ccaggctgtg a 621

20 <210> 68
<211> 597
<212> DNA
<213> Homo sapiens

25 <300>
<302> FGF6
<310> NM020996

30 <400> 68
atgtcccggg gagcaggacg tctgcagggc acgctgtggg ctctcgtctt cctaggcatc 60
ctagtgggca tgggtggtgcc ctgccttgca ggcaccctg ccaacaacac gctgctggac 120
tcgaggggct ggggcaccct gctgtccagg tctcgcgcgg ggctagctgg agagattgcc 180
ggggtgaact gggaaagtgg ctatttgggtg gggatcaagc ggcagcggag gctctactgc 240
aacgtgggca tcggctttca cctccagggtg ctccccgacg gccggatcag cgggaccac 300
35 gaggagaacc cctacagcct gctggaatt tccactgtgg agcgaggcgt ggtgagtctc 360
tttggagtga gaagtgccct cttcgttgcc atgaacagta aaggaagatt gtacgcaacg 420
cccagcttcc aagaagaatg caagttcaga gaaaccttc tgccaacaa ttacaatgcc 480
tacgagtcag acttgtacca agggacctac attgccctga gcaaatacgg acgggtaaaag 540
40 cggggcagca aggtgtcccc gatcatgact gtcactcatt tccttcccag gatctaa 597

<210> 69
<211> 150
<212> DNA
45 <213> Homo sapiens

<300>
<302> FGF7
<310> XM007559

50 <400> 69
atgtcttggc aatgcacttc atacacaatg actaatctat actgtgatga tttgactcaa 60
aaggagaaaa gaaattatgt agttttcaat tctgattcct attcaccttt tgtttatgaa 120
55 tggaaaagctt tgtgcaaaat atacatataa 150

<210> 70
<211> 628
<212> DNA
60 <213> Homo sapiens

<300>

<302> FGF9
<310> XM007105

<400> 70
5 gatggctccc ttagggtgaag ttgggaacta tttcgggtgtg caggatgcgg taccgtttgg 60
gaatgtgccc gtgttgccgg tggacagccc ggttttgtta agtgaccacc tgggtcagtc 120
cgaagcaggg gggctcccca ggggaccgcg agtcacggac ttggatcatt taaaggggat 180
tctcagggcg aggcagctat actgcaggac tggatttcac ttagaaatct tccccaatgg 240
tactatccag ggaaccagga aagaccacag ccgattttggc attctggaat ttatcagtat 300
10 agcagtgggc ctgggtcagca ttcgagggcgt ggacagtgga ctctacctcg ggatgaatga 360
gaagggggag ctgtatggat cagaaaaact aacccaagag tgtgtattca gagaacagtt 420
cgaagaaaac tgggtataata cgtactcatc aaacctatat aagcacgtgg aacttggaag 480
gcgatactat gttgcattaa ataaagatgg gaccccgaga gaagggacta ggactaaacg 540
gcaccagaaa ttcacacatt ttttacctag accagtggac ccgcacaaag tacctgaact 600
15 gtataaggat attctaagcc aaagttga 628

<210> 71
<211> 2469
20 <212> DNA
<213> Homo sapiens

<300>
<302> FGFR1
25 <310> NM000604

<400> 71
atgtggagct ggaagtgcct cctcttcttg gctgtgctgg tcacagccac actctgcacc 60
gctaggccgt ccccgacctt gcctgaacaa gccagccct ggggagcccc tgtggaagtg 120
30 gagtccttcc tgggtccacc cggtgacctg ctgcagcttc gctgtcggct gcgggacgat 180
gtgcagagca tcaactggct gcgggacggg gtgcagctgg cggaaagcaa ccgcaccgcg 240
atcacagggg aggaggtgga ggtgcaggac tccgtgcccc cagactccgg cctctatgct 300
tgcgtaacca gcagccccctc gggcagtgac accacctact tctccgtcaa tgtttcagat 360
gctctccccct cctcggagga tgatgatgat gatgatgact cctcttcaga ggagaaaaga 420
35 acagataaca ccaaaccaaa ccgtatgccc gtatgtccat attggacatc cccagaaaag 480
atggaaaaga aattgcatgc agtgccggct gccaaagacag tgaagttaa atgcccttcc 540
agtggggacc caaaccacac actgcgctgg ttgaaaaatg gcaaagaatt caaacctgac 600
cacagaattg gaggtacaa ggtccgttat gccacctgga gcatcataat ggactctgtg 660
gtgccctctg acaagggcaa ctacacctgc attgtggaga atgagtacgg cagcatcaac 720
40 cacacataacc agctggatgt cgtggagcgg tccctcacc ggcccatcct gcaagcaggg 780
ttgcccgcga acaaacagt ggccctgggt agcaacgtgg agttcatgtg taagggtgac 840
agtgaccgcg agccgcacat ccagtggcta aagcacatcg aggtgaatgg gagcaagatt 900
ggcccagaca acctgcctta tgtccagatc ttgaagactg ctggagttaa taccaccgac 960
aaagagatgg aggtgcttca cttaagaaat gtctcctttg aggacgcagg ggagtatacg 1020
45 tgcttggcgg gtaactctat cggactctcc catcactctg catggttgac cgttctggaa 1080
gccctggaag agaggccggc agtgatgacc tcgccctgt acctggagat catcatctat 1140
tgcacagggg ccttcctcat ctccctgcag gtggggtcgg tcatcgtcta caagatgaag 1200
agtggtacca agaagagtga ctccacagc cagatggctg tgcacaagct ggccaagagc 1260
atccctctgc gcagacaggt aacagtgtct gctgactcca gtgcatccat gaactctggg 1320
50 gttcttcttg ttcggccatc acggctctcc tccagtggga ctcccatgct agcaggggtc 1380
tctgagtatg agcttcccga agaccctcgc tgggagctgc ctgggacag actggtctta 1440
ggcaaaccct tgggagaggg ctgctttggg caggtgggtg tggcagaggc tatcgggctg 1500
gacaaggaca aacccaaccg tgtgacaaa gtggctgtga agatgttgaa gtcggacgca 1560
acagagaaaag acttgtcaga cctgatctca gaaatggaga tgatgaagat gatcgggaag 1620
55 cataagaata tcatcaacct gctgggggcc tgcacgcagg atggtccctt gtatgtcatc 1680
gtggagtatg cctccaaggg caacctgcgg gatactctgc aggccggag gcccccagg 1740
ctgggaatact ctgacaaccc cagccacaac ccagaggagc agctctctc caaggacctg 1800
gtgtcctgcg cctaccaggt ggcccagagg atggagtatc tggcctcaa gaagtgcata 1860
caccgagacc tggcagccag gaatgtcctg gtgacagagg acaatgtgat gaagatagca 1920
60 gactttggcc tcgcacggga cattcaccac atcgactact ataaaaagac aaccaacggc 1980
cgactgcctg tgaagtggat ggcacccgag gcattatttg accgcatcta caccaccag 2040
agtgatgtgt ggtctttcgg ggtgctcctg tgggagatct tcactctggg cggctcccca 2100

<210> 73
 <211> 1695
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

5

<300>
 <302> MT2MMP
 <310> D86331

10

<400> 73
 atgaagcggc cccgctgtgg ggtgccagac cagttcgggg tacgagtga agccaacctg 60
 cggcgccgctc ggaagcgcta cgccctcacc gggaggaagt ggaacaacca ccatctgacc 120
 tttagcatcc agaactacac ggagaagtgg ggctggtagg actcgatgga ggcgggtgcgc 180
 agggccttcc gcgtgtggga gcaggccacg cccctggtct tccaggaggt gccctatgag 240
 15 gacatccggc tgcggcgaca gaaggaggcc gacatcatgg tactctttgc ctctggcttc 300
 cacggcgaca gctcgccggt tgatggcacc ggtggctttc tggcccacgc ctatttccct 360
 ggccccggcc taggcgggga caccattttt gacgcagatg agccctggac cttctccage 420
 actgacctgc atggaaacaa cctcttcctg gtggcagtgc atgagctggg ccacgcgctg 480
 gggctggagc actccagcaa cccaatgcc atcatggcgc cgttctacca gtggaaggac 540
 20 gttgacaact tcaagctgcc cgaggacgat ctccgtggca tccagcagct ctacggtagc 600
 ccagacgggc agccacagcc taccagcct ctcccactg tgacgccacg gcggccaggc 660
 cggcctgacc accggccgcc ccggcctccc cagccaccac cccaggtgg gaagccagag 720
 cggcccccaa agccggggcc cccagtcag ccccgagcca cagagcggcc cgaccagtat 780
 ggccccaaac tctgcgacgg ggactttgac acagtggcca tgcttcgcgg ggagatgttc 840
 25 gtgttcaagg gccgctgggt ctggcgagtc cggcacaacc gcgtcctgga caactatccc 900
 atgcccacgc ggcacttctg gcgtgggtctg ccgggtgaca tcagtgtctg ctacgagcgc 960
 caagacggtc gttttgtctt tttcaaaggc gaccgctact ggctctttcg agaagcgaac 1020
 ctggagcccg gctaccaca gccgctgacc agctatggcc tgggcatccc ctatgaccgc 1080
 attgacacgg ccatctgggt ggagcccaca ggccacacct tcttcttcca agaggacagg 1140
 30 tactggcgct tcaacgagga gacacagcgt ggagaccctg ggtaccccaa gcccatcagt 1200
 gtctggcagg ggatccctgc ctcccctaaa ggggccttcc tgagcaatga cgcagcctac 1260
 acctattct acaaggcac caaatactgg aaattcgaca atgagcgctc gcggatggag 1320
 cccggctacc ccaagtccat cctgcgggac ttcattgggt gccaggagca cgtggagcca 1380
 ggcccccgat ggcccagcgt ggcccggcgg ccttcaacc cccacggggg tgccagagccc 1440
 35 gggcgggaca gcgcagaggg cgacgtgggg gatggggatg gggactttgg ggccgggggc 1500
 aacaaggaca ggggcagccg cgtggtgggt cagatggagg aggtggcagc gacggtgaac 1560
 gtggtgatgg tgctgggtgc actgctgctg ctgctctgcg tcctgggcct cacctacgcg 1620
 ctggtgcaga tgcagcga ggtgcccga cgtgtcctgc tttactgcaa gcgctcgctg 1680
 caggagtggg tctga 1695

40

<210> 74
 <211> 1824
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

45

<300>
 <302> MT3MMP
 <310> D85511

50

<400> 74
 atgatcttac tcacattcag cactggaaga cggttggatt tcgtgcatca ttcgggggtg 60
 tttttcttgc aaaccttgct ttggatttta tgtgtacag tctgcggaac ggagcagtat 120
 55 ttcaatgtgg aggtttggtt acaaaagtac ggctaccttc caccgactga ccccgagaatg 180
 tcagtgtctg gctctgcaga gaccatgcag tctgccctag ctgccatgca gcagtcttat 240
 ggcattaaac tgacaggaaa agtggacaga aacacaattg actggatgaa gaagccccga 300
 tgccgtgtac ctgaccagac aagaggtagc tccaaatttc atattcgtcg aaagcgatat 360
 gcattgacag gacagaaatg gcagcacaag cacatcactt acagtataaa gaacgtaact 420
 ccaaaagtag gagaccctga gactcgtaaa gctattcgcc gtgcctttga tgtgtggcag 480
 60 aatgtaactc ctctgacatt tgaagaagtt ccctacagtg aattagaaaa tggcaaacgt 540
 gatgtggata taaccattat ttttgcatct ggtttccatg gggacagctc tccctttgat 600
 ggagagggag gatttttggc acatgcctac ttccctggac cagggaattgg aggagatacc 660

ctttttgact cagatgagcc atggacacta ggaaatccta atcatgatgg aaatgactta 720
 tttctttag cagtccatga actgggacat gctctgggat tggagcattc caatgacccc 780
 actgccatca tggctccatt ttaccagtac atggaaacag acaacttcaa actacctaata 840
 gatgatttac agggcatcca gaagatatat ggtccacctg acaagattcc tccacctaca 900
 5 agacctctac cgacagtgcc cccacaccgc tctattcctc cggtgaccc aaggaaaaat 960
 gacaggccaa aacctcctcg gcctccaacc ggcagaccct cctatcccgg agccaaaccc 1020
 aacatctgtg atgggaactt taacactcta gctattcttc gtcgtgagat gtttgttttc 1080
 aaggaccagt ggttttggcg agtgagaaac aacagggtga tggatggata cccaatgcaa 1140
 attacttact tctggcgggg cttgcctcct agtatcgatg cagtttatga aaatagcgac 1200
 10 gggaattttg tgttctttaa aggtaacaaa tattgggtgt tcaaggatac aactcttcaa 1260
 cctgggttacc ctcatgactt gataaccctt ggaagtggaa ttccccctca tggatttgat 1320
 tcagccattt ggtgggagga cgtcgggaaa acctatttct tcaagggaga cagatattgg 1380
 agatatagt aagaaatgaa aacaatggac cctggctatc ccaagccaat cacagtctgg 1440
 aaagggatcc ctgaatctcc tcaggagga tttgtacaca aagaaaatgg ctttacgtat 1500
 15 ttctacaaag gaaaggagta ttggaaatc aacaaccaga tactcaagg agaacctgga 1560
 tatccaagat ccactcctcaa ggattttatg ggctgtgatg gaccaacaga cagagttaaa 1620
 gaaggacaca gcccaccaga tgatgtagac attgtcatca aactggacaa cacagccagc 1680
 actgtgaaag ccatagctat tgcattcccc tgcattctgg ccttatgcct ccttgatttg 1740
 gtttacactg tgttccagtt caagagggaaa ggaacacccc gccacatact gtactgtaaa 1800
 20 cgctctatgc aagagtgggt gtga 1824

<210> 75
 <211> 1818
 25 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<300>
 <302> MT4MMP
 30 <310> AB021225

<400> 75
 atgcggcgcc ggcgagcccc gggacccggc ccgcccgcgc cagggcccg actctcgcg 60
 ctgcccgtgc tgcgctgccc gctgctgctg ctgctggcgc tggggaccgc cggggctgc 120
 35 gccgcgcccg aaccgcgccc ggcgcccag gacctcagcc tgggagtgga gtggctaagc 180
 aggttcgggtt acctgcccc ggtgacccc acaacagggc agctgcagac gcaagaggag 240
 ctgtctaaag ccatacacagc catgcagcag tttggtggcc tggaggccac cggcatctcg 300
 gacgaggcca cctggccct gatgaaaacc ccacgctgct cctgccaga cctcctgtc 360
 ctgacccagg ctgcaggag acgccaggct ccagccccc ccaagtggaa caagaggaa 420
 40 ctgtcgtgga gggtcgggac gttcccacgg gactcaccac tggggcacga cacggtgctg 480
 gcaactatgt actacgccct caaggtctgg agcgacattg cggccctgaa cttccacgag 540
 gtggcgggca gcaccgcca catccagatc gacttctoca aggcgacca taacgagcgc 600
 taccctctcg agcccgggc gcaccgtgcc cacgccttct tccccggcca ccaccacacc 660
 gccgggtaca cccactttaa cgatgacgag gcctggacct tccgctctc ggatgccac 720
 45 gggatggacc tgtttgcagt ggtgtccac gactttggcc acgccattgg gtaagccat 780
 gtggccgctg cacactccat catgcggccc tactaccagg gcccggtggg tgaccgctg 840
 cgctacgggc tcccctacga ggacaagggt cgcgtctggc agctgtacgg tgtgcgggag 900
 tctgtgtctc ccacggcgca gcccgaggag cctccccctg tgcggagacc ccagacaac 960
 cggctccagc ccccgcccag gaaggacgtg cccacagat gcagactca ctttgacgcg 1020
 50 gtggcccaga tccggggtga agctttcttc ttcaaaggca agtacttctg gcggtgacg 1080
 cgggaccggc acctgggtgtc cctgcagccg gcacagatgc accgcttctg gcggggcctg 1140
 ccgctgcacc tggacagcgt ggacgcgctg tacgagcgca ccagcgacca caagatcgtc 1200
 ttcttttaaag gagacaggta ctgggtgttc aaggacaata acgtagagga aggatacccg 1260
 cgccccgtct ccgacttcag cctcccgcct ggccgcatcg acgctgcctt ctccctgggc 1320
 55 cacaatgaca ggacttattt cttaaggac cagctgtact ggcgctacga tgaccacacg 1380
 aggacatgg accccggcta ccccgcccag agccccctgt ggagggtgt cccagcacg 1440
 ctggacgacg cctacgcgtg tccgacggt gcctcctact tcttccgtgg ccaggagtac 1500
 tggaaagtgc tggatggcga gctggagggt gcacccgggt acccacagtc cacggcccg 1560
 gactggctgg tgtgtggaga ctacagggc gatggatctg tggctgcggg cgtggacgcg 1620
 60 gcagaggggg cccgcgcccc tccaggacaa catgaccaga gccgctcggg ggacggttac 1680
 gaggtctgct catgcacctc tggggcatcc tctcccccg gggcccagc cccactgggtg 1740
 gctgccacca tgcgtctgct gctgccgcca ctgtcaccag gcgcctgtg gacagcgcc 1800

caggccctga cgctatga

1818

5 <210> 76
 <211> 1938
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

10 <300>
 <302> MT5MMP
 <310> AB021227

<400> 76
 15 atgccgagga gccggggcgg ccgcgcgcgc ccgggggcgc gccgcgcgc gccgcgcgc 60
 ggccaggccc cgcgctggag ccgctggcgc gtccttgggc ggctgctgct gctgctgctg 120
 ccgcgcctct gctgcctccc gggcgcgcgc ccggcggcgc ccggcggcgc gggggcaggg 180
 aaccgggcag cgggtggcgg ggcggtggcg ccggcggcag aggcggaggc gcccttcgcc 240
 gggcagaact ggttaaagtc ctatggctat ctgcttccct atgactcacg ggcatctgcg 300
 ctgcactcag cgaaggcctt gcagtcggca gtctccacta tgcagcagtt ttacgggatc 360
 20 ccggtcaccg gtgtgttgga tcagacaacg atcgagtgga tgaagaaacc ccgatgtggt 420
 gtccctgacg accccactt aagccgtagg cggagaaaca agcgctatgc cctgactgga 480
 cagaagtgga ggcaaaaaca catcacctac agcattcaca actatacccc aaaagtgggt 540
 gagctagaca cgcggaaagc tattcgccag gctttcgatg tgtggcagaa ggtgacccca 600
 ctgacctttg aagagggtgc ataccatgag atcaaaagtg accggaagga ggcagacatc 660
 25 atgatctttt ttgcttctgg ttccatggc gacagctccc catttgatgg agaaggggga 720
 ttcttggccc atgcctactt ccctggccca gggattggag gagacacca ctttgactcc 780
 gatgagccat ggacgctagg aaacgccaac catgacggga acgacctctt cctggtggct 840
 gtgcatgagc tgggccacgc gctgggactg gagcactcca gcgacccag cgccatcatg 900
 gcgcccctct accagtacat ggagacgcac aacttcaagc tgccccagga cgatctccag 960
 30 ggcattccaga agatctatgg acccccagcc gagcctctgg agcccacaag gccactccct 1020
 acactccccg tccgcaggat ccactcacca tcggagagga aacacgagcg ccagcccagg 1080
 cccctcggc cgccctcgg ggaccggcca tccacaccag gcaccaaacc caacatctgt 1140
 gacggcaact tcaacacagt ggccctcttc ccgggcgaga tgtttgtctt taaggatcgc 1200
 35 tggttctggc gtctgcgcaa taaccgagtg caggagggct accccatgca gatcgagcag 1260
 ttctggaagg gcctgcctgc ccgcctcgac gcagcctatg aaagggccga tgggagattt 1320
 gtcttcttca aagtgacaa gtattgggtg tttaaggagg tgacggtgga gcctgggtac 1380
 cccacagcc tgggggagct gggcagctgt ttgcccgtg aaggcattga cacagctctg 1440
 cgctgggaac ctgtgggcaa gacctacttt ttcaaaggcg agcggtagct gcgctacagc 1500
 40 gaggagcggc gggccacgga ccctggctac cctaagccca tcaccgtgtg gaagggaatc 1560
 ccacaggctc cccaaggagc cttcatcagc aagggaaggat attacacctt tttctacaag 1620
 ggccgggact actggaagtt tgacaaccag aaactgagcg tggagccagg ctaccgcgcg 1680
 aacatcctgc gtgactggat gggctgcaac cagaaggagg tggagcggcg gaaggagcgg 1740
 cggctgcccc aggcagcagc ggacatcatg gtgacctca acgatgtgcc gggctccgtg 1800
 45 aacgcccgtg ccgtggtcat cccctgcac ctgtccctct gcacctcgtt gctgggtctac 1860
 accatcttcc agttcaagaa caagacaggc cctcagcctg tcacctacta taagcgccca 1920
 gtccagggaat ggggtgtga 1938

50 <210> 77
 <211> 1689
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

55 <300>
 <302> MT6MMP
 <310> AJ27137

<400> 77
 60 atgcggctgc ggctccggct tctggcgtgc ctgcttctgc tgcctggcacc gccgcgcgc 60
 gcccgaagc cctcggcgca ggacgtgagc ctgggcgtgg actggctgac tcgctatggt 120
 tactgcccgc caccaccacc tgcccaggcc cagctgcaga gccctgagaa gttgcgcgat 180
 gccatcaaag tcatgcagag gttcgcgggg ctgcccggaga ccggccgcat ggaccaggg 240

5 acagtggcca ccatgcgtaa gccccgctgc tccctgcctg acgtgctggg ggtggcgggg 300
 ctgggtcaggc ggcgtcgccg gtacgctctg agcggcagcg tgtggaagaa gcgaaccctg 360
 acatggaggg tacgttcctt cccccagagc tcccagctga gccaggagac cgtgcgggtc 420
 ctcatgagct atgccctgat ggccctggggc atggagtcag gcctcacatt tcatgagggtg 480
 gattcccccc agggccagga gcccgcacac ctcatcgact ttgcccgcgc cttccaccag 540
 gacagctacc ccttcgacgg gttggggggc acctagccc atgccttctt cctggggag 600
 caccatctt ccggggacac tcactttgac gatgaggaga cctggacttt tgggtcaaaa 660
 gacggcgagg ggaccgacct gtttgccgtg gctgtccatg agtttggcca cgccctgggc 720
 ctggggccact cctcagcccc caactccatt atgaggccct tctaccaggg tccggtgggc 780
 10 gaccctgaca agtaccgcct gtctcaggat gaccgcgatg gcctgcagca actctatggg 840
 aaggcgcccc aaacccata tgacaagccc acaaggaaac cctggctcc tccgccccag 900
 cccccggcct cgccacaca cagcccatcc ttcccatcc ctgatcgatg tgagggcaat 960
 tttgacgcca tcgccaacat ccgaggggaa actttcttct tcaaaggccc ctggttctgg 1020
 cgctccagc cctccggaca gctggtgtcc ccgcgaccgc cacggctgca ccgcttctgg 1080
 15 gaggggctgc ccgcccagggt gagggtggtg caggccgcct atgctcggca ccgagacggc 1140
 cgaatcctcc tcttttagcg gcccagttc tgggtgttcc aggaccggca gctggagggc 1200
 gggcgcgagg cgctcacgga gctggggctg ccccgggag aggaggtgga cgctgtgttc 1260
 tcgtggccac agaacgggaa gacctacctg gtccgcggcc ggcagtactg gcgctacgac 1320
 gaggcgcggg cgcgcccggg ccccggtac cctcgcgacc tgagcctctg ggaaggcgcg 1380
 20 cccccctccc ctgacgatgt caccgtcagc aacgcagggt acacctactt cttcaagggc 1440
 gccactact ggcgcttccc caagaacagc atcaagaccg agccggacgc cccccagccc 1500
 atggggccca actggctgga ctgccccgcc ccgagctctg gtccccgcgc cccagggccc 1560
 cccaaagcga ccccgctgtc cgaaacctgc gattgtcagt gcgagctcaa ccaggccgca 1620
 25 ggacgttggc ctgctcccat cccgctgctc ctcttgcccc tgctggtggg ggtgttagcc 1680
 tcccgctga 1689

<210> 78
 <211> 1749
 30 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<300>
 <302> MTMP
 35 <310> X90925

<400> 78
 atgtctcccg cccaagacc ctcccggtgt ctctgctcc ccctgctcac gctcggcacc 60
 40 gcgctcgctc ccctcggtct ggcccaaagc agcagcttca gcccgaagc ctggctacag 120
 caatatggct acctgcctcc cggggacctc cgtacccaca cacagcgctc accccagtca 180
 ctctcagcgg ccctcgctgc catgcagaag ttttacggct tgcaagtaac aggcaagct 240
 gtgcagaca ccatgaaggc catgaggcgc ccccgatgtg gtgttccaga caagtgtggg 300
 gctgagatca aggccaatgt tcgaaggaag cgctacgcca tccagggtct caaatggcaa 360
 45 cataatgaaa tcactttctg catccagaat tacaccccca aggtgggcga gtatgccaca 420
 tacgaggcca ttcgcaaggc gttccgcgtg tgggagagtg ccacaccact gcgctccgc 480
 gagggtgcct atgcctacat ccgtgagggc catgagaagc agcccgacat catgatcttc 540
 tttgccgagg gcttccatgg cgacagcacg cccttcgatg gtgagggcgg cttcctggcc 600
 catgcctact tcccaggccc caacattgga ggagacaccc actttgactc tgccgagcct 660
 tggactgtca ggaatgagga tctgaatgga aatgacatct tcctggtggc tgtgcacgag 720
 50 ctggggccatg ccctgggggt cgagcatttc agtgacccct cggccatcat ggcacccttt 780
 taccagtgga tggacacgga gaattttgtg ctgcccgatg atgaccgcgc gggcatccag 840
 caactttatg ggggtgagtc agggttcccc accaagatgc cccctcaacc caggactacc 900
 tcccggcctt ctgttctctg taaacccaaa aacccacact atgggcccga catctgtgac 960
 gggaactttg acaccgtggc catgctccga ggggagatgt ttgtcttcaa ggagcgctgg 1020
 55 ttctggcggg tgaggaataa ccaagtgatg gatggatacc caatgcccat tggccagttc 1080
 tggcgggggc tgccctgcgtc catcaacact gcctacgaga ggaaggatgg caaatctgct 1140
 ttcttcaaag gagacaagca ttgggtgttt gatgagcggt ccctggaacc tggctacccc 1200
 aagcacatta aggagctggg ccgagggctg cctaccgaca agattgatgc tgctctcttc 1260
 tggatgccca atggaaagac ctacttcttc cgtggaaaca agtactaccg tttcaacgaa 1320
 60 gagctcaggg cagtggatag cgagtacccc aagaacatca aagtctggga agggatccct 1380
 gagtctccca gagggtcatt catgggcagc gatgaagtct tcacttactt ctacaagggg 1440
 aacaaatact ggaaattcaa caaccagaag ctgaaggtag aaccgggcta cccaagcca 1500

gccctgaggg actggatggg ctgcccacg ggaggccggc cggatgaggg gactgaggag 1560
 gagacggagg tgatcatcat tgagggtggac gaggagggcg gcggggcggt gagcgcggt 1620
 gccgtggtgc tgcccgtgct gctgctgctc ctgggtgctgg cgggtgggcct tgcaagtcttc 1680
 ttcttcagac gccatgggac ccccaggcga ctgctctact gccagcgttc cctgctggac 1740
 5 aaggtctga 1749

<210> 79
 <211> 744
 10 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<300>
 <302> FGF1
 15 <310> XM003647

<400> 79
 atggccgcgg ccatcgctag cggcttgatc cgccagaagc ggcaggcgcg ggagcagcac 60
 tgggaccggc cgtctgccag caggagggcg agcagcccca gcaagaaccg cgggctctgc 120
 20 aacggcaacc tgggtggatat cttctccaaa gtgcgcatct tcggcctcaa gaagcgcagg 180
 ttgcggcgcc aagatcccca gctcaagggt atagtgaacca gggtatattg caggcaaggc 240
 tactacttgc aaatgcaccc cgatggagct ctcgatggaa ccaaggatga cagcactaat 300
 tctacactct tcaacctcat accagtggga ctacgtgttg ttgccatcca gggagtgaag 360
 acaggggtgt atatagccat gaatggagaa ggttacctct acccatcaga actttttacc 420
 25 cctgaatgca agtttaaaga atctgttttt gaaaattatt atgtaatcta ctcatccatg 480
 ttgtacagac aacaggaatc tggtagagcc tgggttttgg gattaaataa ggaagggcaa 540
 gctatgaaag ggaacagagt aaagaaaacc aaaccagcag ctcattttct acccaagcca 600
 ttggaagtgt ccatgtaccg agaaccatct ttgcatgatg ttggggaaac ggtcccgaag 660
 cctggggtga cgccaagtaa aagcacaagt gcgtctgcaa taatgaatgg aggcaaacca 720
 30 gtcaacaaga gtaagacaac atag 744

<210> 80
 <211> 468
 35 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<300>
 <302> FGF2
 40 <310> NM002006

<400> 80
 atggcagccg ggagcatcac cacgctgccc gccttgccc aggatggcgg cagcggcgcc 60
 ttcccgcgcc gccacttcaa ggaccccaag cggctgtact gcaaaaacgg gggcttcttc 120
 45 ctgcgcatcc accccgacgg ccgagttgac ggggtccggg agaagagcga ccctcacatc 180
 aagctacaac ttcaagcaga agagagagga gttgtgtcta tcaaaggagt gtgtgctaac 240
 cgttacctgg ctatgaagga agatggaaga ttactggctt ctaaatgtgt tacggatgag 300
 tgtttctttt ttgaacgatt ggaatctaata aactacaata cttaccggtc aaggaaatac 360
 accagttggt atgtggcact gaaacgaact gggcagtata aacttggatc caaaacagga 420
 50 cctgggcaga aagctatact ttttcttcca atgtctgcta agagctga 468

<210> 81
 <211> 756
 55 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<300>
 <302> FGF23
 60 <310> NM020638

<400> 81

```

    atgttggggg cccgcctcag gctctgggtc tgtgccttgt gcagcgtctg cagcatgagc 60
    gtcctcagag cctatcccaa tgctcccca ctgctcggct ccagctgggg tggcctgac 120
    cacctgtaca cagccacagc caggaacagc taccacctgc agatccacaa gaatggccat 180
    gtggatggcg caccatca gaccatctac agtgccctga tgatcagatc agaggatgct 240
5    ggctttgtgg tgattacagg tgtgatgagc agaagatacc tctgcatgga ttccagaggc 300
    aacatttttg gatcacacta ttctgacctg gagaactgca ggttccaaca ccagacgctg 360
    gaaaacgggt acgacgtcta ccactctcct cagtatcact tcttggtcag tctgggccgg 420
    gcgaagagag ccttcctgcc aggcataaac ccacccccgt actccagtt cctgtcccg 480
    aggaacgaga tcccccta tcaattcaac acccccatac cacggcggca caccggagc 540
10    gccgaggacg actcggagcg ggacccccctg aacgtgctga agccccgggc ccggatgacc 600
    ccggccccgg cctcctgttc acaggagctc ccgagcgccg aggacaacag ccgatggcc 660
    agtgacccat taggggtggt caggggagggt cgagtgaaca cgcacgctgg gggaacgggc 720
    ccggaaggct gccgcccctt cgccaagttc atctag 756

15    <210> 82
    <211> 720
    <212> DNA
    <213> Homo sapiens

20    <300>
    <302> FGF3
    <310> NM005247

25    <400> 82
    atgggcctaa tctggctgct actgctcagc ctgctggagc ccggctggcc cgcagcgggc 60
    cctggggcgc gggtgcggcg cgatgcgggc ggccgtggcg gcgtctacga gcaccttggc 120
    ggggcgcgcc ggcgcgcgcaa gctctactgc gccacgaagt accacctcca gctgcacccg 180
    agcggccgcg tcaacggcag cctggagaac agcgcctaca gtattttgga gataacggca 240
30    tgggaggtgg gcattgtggc catcaggggt ctcttctccg ggcggtacct ggccatgaac 300
    aagaggggac gactctatgc ttccggagcac tacagcgccg agtgcgagtt tgtggagcgg 360
    atccacgagc tgggtataa tacgtatgcc tcccggctgt accggacggt gtctagtacg 420
    cctggggccc gccggcagcc cagcgccgag agactgtggt acgtgtctgt gaacggcaag 480
    ggccggcccc gcaggggctt caagaccgcg cgcacacaga agtcctccct gttcctgccc 540
35    ccgctgctgg accacaggga ccacgagatg gtgcggcagc tacagagtgg gctgcccaga 600
    cggcctggta aggggggtcca gcccgcagcg ccggcggcaga agcagagccc ggataacctg 660
    gagccctctc acgttcaggc ttccgagactg ggctcccagc tggaggccag tgcgcactag 720

40    <210> 83
    <211> 807
    <212> DNA
    <213> Homo sapiens

45    <300>
    <302> FGF5
    <310> NM004464

    <400> 83
50    atgagcttgt ccttctcctt cctcctcttc ttcagccacc tgatcctcag cgcctgggct 60
    cacggggaga agcgtctcgc ccccaaaggg caaccgggac ccgctgccac tgataggaac 120
    cctataggct ccagcagcag acagagcagc agtagcgcta tgtcttctc ttctgcctcc 180
    tctcccccg cagcttctct gggcagccaa ggaagtggct tggagcagag cagtttccag 240
    tggagccctt cggggcgccg gaccggcagc ctctactgca gagtgggcat cggtttccat 300
55    ctgcagatct acccgatgg caaagtcaat ggatcccacg aagccaatat gttaatgttt 360
    ttggaaatat ttgctgtgtc tcaggggatt gtaggaatac gaggagtttt cagcaacaaa 420
    tttttagcga tgtcaaaaaa aggaaaactc catgcaagtg ccaagttcac agatgactgc 480
    aagttcaggg agcgttttca agaaaatagc tataatacct atgcctcagc aatacataga 540
    actgaaaaaa cagggcgggg gtggtatggt gcctgaata aaagaggaaa agccaaacga 600
60    ggggtcagcc cccgggttaa accccagcat atctctaccc atttcttccc aagattcaag 660
    cagtcggagc agccagaact ttctttcacg gttactgttc ctgaaaagaa aaatccacct 720
    agccctatca agtcaaagat tcccccttct gcacctcgga aaaataccaa ctcagtgaag 780

```

tacagactca agtttcgctt tggataa

807

5 <210> 84
 <211> 649
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

10 <300>
 <302> FGF8
 <310> NM006119

<400> 84
 15 atgggagcc cccgctccgc gctgagctgc ctgctgttgc acttgctggt cctctgcctc 60
 caagcccagg taactgttca gtcctcacct aattttacac agcatgtgag ggagcagagc 120
 ctggtgacgg atcagctcag ccgcccgcctc atccggacct accaactcta cagccgcacc 180
 agcgggaagc acgtgcaggc cctggccaac aagcgcacat acgccatggc agaggacggc 240
 gaccccttcg caaagctcat cgtggagacg gacacctttg gaagcagagt tctgagtcga 300
 ggagccgaga cgggcctcta catctgcatg aacaagaagg ggaagctgat cgccaagagc 360
 20 aacggcaaag gcaaggactg cgtcttcacg gagattgtgc tggagaacaa ctacacagcg 420
 ctgcagaatg ccaagtacga gggctgggtac atggccttca cccgcaaggg ccggccccgc 480
 aagggctcca agacgcggca gcaccagcgt gaggtccact tcatgaagcg gctgccccgg 540
 ggccaccaca ccaccgagca gagcctgcgc ttcgagttcc tcaactaccg gcccttcacg 600
 cgcagcctgc gcggcagcca gaggacttgg gccccggaac cccgatagg 649

25 <210> 85
 <211> 2466
 <212> DNA
 30 <213> Homo sapiens

<300>
 <302> FGFR2
 <310> NM000141

35 <400> 85
 atggtcagct ggggtcgttt catctgcctg gtcgtggtca ccatggcaac cttgtccctg 60
 gcccgccctt ccttcagttt agttgaggat accacattag agccagaaga gccaccaacc 120
 40 aaataccaaa tctctcaacc agaagtgtac gtggctgcgc caggggagtc gctagagggtg 180
 cgctgcctgt tgaaagatgc cgccgtgatc agttggacta aggatggggg gcacttgggg 240
 cccaacaata ggacagtgtt tattggggag tacttgcgaga taaagggcgc cagccctaga 300
 gactccggcc tctatgcttg tactgccagt aggactgtag acagtgaaac ttggtacttc 360
 atggtgaatg tcacagatgc catctcatcc ggagatgatg aggatgacac cgatggtgcg 420
 gaagatthttg tcagtggaga cagtaacaac aagagagcac catactggac caacacagaa 480
 45 aagatggaaa agcggctcca tgctgtgctt gcggccaaca ctgtcaagtt tcgctgcccc 540
 gccgggggga acccaatgcc aaccatgctg tggctgaaaa acgggaagga gtttaagcag 600
 gagcatcgca ttggaggcta caaggtacga aaccagcact ggagcctcat tatggaaagt 660
 gtggtcccat ctgacaaggg aaattatacc tgtgtgggtg agaatagaata cgggtccatc 720
 aatcacacgt accacctgga tgttggggag cgatcgccct accggcccat cctccaagcc 780
 50 ggactgccgg caaatgcctc cacagtgggt ggaggagacg tagagtttgt ctgcaagggtt 840
 tacagtgatg ccacgcccc caaccagtgg atcaagcacg tggaaaagaa cggcagtaaa 900
 tacgggcccc acgggctgcc ctacctcaag gttctcaagg ccgccggtgt taacaccacg 960
 gacaaagaga ttgaggttct ctatatcgg aatgtaactt ttgaggacgc tggggaatat 1020
 acgtgcttgg cgggtaaatc tattgggata tcctttcact ctgcatgggt gacagttctg 1080
 55 ccagcgcctg gaagagaaaa ggagattaca gcttccccag actacctgga gatagccatt 1140
 tactgcatag ggtcttctt aatcgctgt atggtggtaa cagtcacct gtgcccgaatg 1200
 aagaacacga ccaagaagcc agacttcagc agccagccgg ctgtgcacaa gctgacaaa 1260
 cgtatcccc tgcggagaca ggtaacagtt tcggctgagt ccagctcctc catgaactcc 1320
 aacacccccg tggtgaggat aacaacacgc ctctcttcaa cggcagacac ccccatgctg 1380
 60 gcaggggtct ccgagtatga acttccagag gaccaaaat gggagtttcc aagagataag 1440
 ctgacactgg gcaagcccc gggagaaggt gtcttggggc aagtggatcat ggcggaagca 1500
 gtgggaattg acaaagacaa gcccaaggag gcggtcaccg tggccgtgaa gatgttgaaa 1560

	gatgatgcc	cagagaaaga	cctttctgat	ctggtgtcag	agatggagat	gatgaagatg	1620
	attgggaaac	acaagaatat	cataaatctt	cttggagcct	gcacacagga	tgggcctctc	1680
	tatgtcatag	ttgagtatgc	ctctaaaggc	aacctccgag	aatacctccg	agcccggagg	1740
	ccacccggga	tggagtactc	ctatgacatt	aacctgttcc	ctgaggagca	gatgaccttc	1800
5	aaggacttgg	tgtcatgcac	ctaccagctg	gccagaggca	tggagtactt	ggcttcccaa	1860
	aaatgtattc	atcgagattt	agcagccaga	aatgttttgg	taacagaaaa	caatgtgatg	1920
	aaaatagcag	actttggact	cgccagagat	atcaacaata	tagactatta	caaaaagacc	1980
	accaatgggc	ggcttccagt	caagtggatg	gctccagaag	ccctgtttga	tagagtatac	2040
10	actcatcaga	gtgatgtctg	gtccttcggg	gtgttaatgt	gggagatcct	cactttaggg	2100
	ggctcgccct	accagggat	tcccgtagg	gaacttttta	agctgctgaa	ggaaggacac	2160
	agaatggata	agccagccaa	ctgcaccaac	gaactgtaca	tgatgatgag	ggactgttgg	2220
	catgcagtgc	cctcccagag	accaacgttc	aagcagttgg	tagaagactt	ggatcgaatt	2280
	ctcactctca	caaccaatga	ggaatacttg	gacctcagcc	aacctctcga	acagtattca	2340
	cctagttacc	ctgacacaag	aagttcttgt	tcttcaggag	atgattctgt	tttttctcca	2400
15	gaccccatgc	cttacgaacc	atgccttctc	cagtatccac	acataaacgg	cagtgtttaa	2460
	acatga						2466
	<210> 86						
20	<211> 2421						
	<212> DNA						
	<213> Homo sapiens						
	<300>						
25	<302> FGFR3						
	<310> NM000142						
	<400> 86						
	atgggcgccc	ctgcctgcgc	cctcgcgctc	tgcgtggccg	tggccatcgt	ggccggcgcc	60
30	tctcggagct	ccttggggac	ggagcagcgc	gtcgtggggc	gagcggcaga	agtcccgggc	120
	ccagagcccg	cccagcagga	gcagttggtc	ttcggcagcg	gggatgctgt	ggagctgagc	180
	tgtcccccg	ccgggggtgg	tccccatggg	cccactgtct	gggtcaagga	tggcacaggg	240
	ctggtgccct	cggagcgtgt	cctggtgggg	ccccagcggc	tgcaggtgct	gaatgcctcc	300
	cacgaggact	ccggggccta	cagctgcccg	cagcggctca	cgcagcgctg	actgtgccac	360
35	ttcagtgtgc	gggtgacaga	cgctccatcc	tccggagatg	acgaagacgg	ggaggacgag	420
	gctgaggaca	caggtgtgga	cacaggggcc	ccttactgga	cacggcccg	gcggatggac	480
	aagaagctgc	tggcgtgccc	ggccggccaa	accgtccgct	tccgctgccc	agccgctggc	540
	aacccacttc	cctccatctc	ctggctgaag	aacggcaggg	agttccgctg	cgagcaccgc	600
	attggaggca	tcaagctgcg	gcatacagcag	tggagcctgg	tcatggaaaag	cgtgggtgcc	660
40	tccgaccgcg	gcaactacac	ctgcgtcgtg	gagaacaagt	ttggcagcat	ccggcagacg	720
	tacacgtctg	agctgctgga	gcgctccccg	caccggccca	tctgcaggc	ggggctgccc	780
	gccaaccaga	cggcgtgtgt	gggcagcgag	gtggagtcc	actgcaaggt	gtacagtgc	840
	gcacagcccc	acatccagtg	gctcaagcac	gtggaggtga	acggcagcaa	gggtgggccc	900
	gacggcacac	cctacgttac	cgtgctcaag	acggcgggcg	ctaaccacc	cgacaaggag	960
45	ctagaggttc	tctccttgca	caacgtcacc	tttgaggacg	ccggggagta	cacctgctg	1020
	gcgggcaatt	ctattgggtt	ttctcatcac	tctgcgtggc	tggtggtgct	gccagccgag	1080
	gaggagctgg	tggaggctga	cgaggcgggc	agtgtgtatg	caggcatcct	cagctacggg	1140
	gtgggcttct	tctgttcat	cctggtggtg	gcggctgtga	cgctctgccc	cctgctcagc	1200
	ccccccaaga	aaggcctggg	ctccccacc	gtgcacaaga	tctcccgtt	cccgtcaag	1260
50	cgacaggtgt	ccctggagtc	caacgcgtcc	atgagctcca	acacaccact	ggtgctgcat	1320
	gcaaggctgt	cctcagggga	gggccccacg	ctggccaatg	tctccgagct	cgagctgcct	1380
	gccgacccca	aatgggagct	gtctcgggcc	cggctgaccc	tgggcaagcc	ccttggggag	1440
	ggctgcttcg	gccaggtggt	catggcggag	gccatcggca	ttgacaagga	ccgggcccgc	1500
	aagcctgtca	ccgtagccgt	gaagatgctg	aaagacgatg	ccactgacaa	ggacctgtcg	1560
55	gacctggtgt	ctgagatgga	gatgatgaag	atgatcggga	aacacaaaaa	catcatcaac	1620
	ctgctgggcg	ctgcacgca	gggcggggcc	ctgtactgct	tggtggagta	cgcgcccaag	1680
	ggtaacctgc	gggagtctct	gcgggcgcgg	cggccccggg	gcctggacta	ctccttcgac	1740
	acctgcaagc	cgcccgagga	gcagctcacc	ttcaaggacc	tggtgtcctg	tgcctaccag	1800
	gtggcccggg	gcatggagta	cttggcctcc	cagaagtgc	tccacagggg	cctggctgcc	1860
60	cgcaatgtgc	tggtgaccga	ggacaacgtg	atgaagatcg	cagacttcgg	gctggcccgg	1920
	gacgtgcaca	acctcgacta	ctacaagaag	acaaccaacg	gccggctgcc	cgtaagtg	1980
	atggcgccctg	aggccttggt	tgaccgagtc	tacactcacc	agagtgcgt	ctggtccttt	2040

```

5      ggggtcctgc tctgggagat cttcacgctg gggggctccc cgtaccccg ccatccctgtg 2100
      gaggagctct tcaagctgct gaaggagggc caccgcatgg acaagcccgc caactgcaca 2160
      cacgacctgt acatgatcat gcgggagtg cggcatgccg cgccctccca gaggcccacc 2220
      ttcaagcagc tgggtggagga cctggaccgt gtccttaccg tgacgtccac cgacgagtac 2280
      ctggacctgt cggcgccctt cgagcagtac tcccggggtg gccaggacac cccagctccc 2340
      agtcctctcag gggacgactc cgtgtttgcc caccgacctg tgccccgggc cccacccagc 2400
      agtgggggct cgcggacgtg a                                     2421

10    <210> 87
      <211> 2102
      <212> DNA
      <213> Homo sapiens

15    <300>
      <302> HGF
      <310> E08541

      <400> 87
20    atgcagaggg acaaaggaaa agaagaaata caattcatga attcaaaaaa tcagcaaaga 60
      ctaccctaata caaaatagat ccagcactga agataaaaac caaaaaagtg aatactgcag 120
      accaatgtgc taatagatgt actaggaata aaggacttcc attcacttgc aaggcttttg 180
      tttttgataa agcaagaaaa caatgcctct ggttcccctt caatagcatg tcaagtggag 240
      tgaaaaaaga atttggccat gaatttgacc tctatgaaaa caaagactac attagaaact 300
25    gcatcattgg taaaggacgc agctacaagg gaacagtatc tatcactaag agtggcatca 360
      aatgtcagcc atgtatccac acgaacacag ctttttgctt tcgagctatc 420
      ggggtaaaga cctacaggaa aactactgtc gaaatcctcg aggggaagaa gggggaccct 480
      ggtgtttcac aagcaatcca gaggtacgct acgaagtctg tgacattcct cagtgttcag 540
      aagttgaatg catgacctgc aatggggaga gttatcgagg tctcatggat catacagaat 600
30    caggcaagat ttgtcagcgc tgggatcatc agacaccaca ccggcacaaa ttcttgccctg 660
      aaagatatcc cgacaagggc tttgatgata attattgccg caatcccgat ggccagccga 720
      ggccatgggtg ctatactctt gacctcaca cccgctggga gtactgtgca attaaaacat 780
      gcgctgacaa tactatgaat gacactgatg ttcttttgga aacaactgaa tgcattcaag 840
      gtcaaggaga aggctacagg ggcactgtca ataccatttg gaatggaatt ccatgtcagc 900
35    gttgggattc tcagtatcct cagcagcatg acatgactcc tgaaaatttc aagtgaag 960
      acctacgaga aaattactgc cgaaatccag atgggtctga atcaccctgg tgttttacca 1020
      ctgatccaaa catccgagtt ggctactgct cccaaattcc aaactgtgat atgtcacatg 1080
      gacaagattg ttatcgtggg aatggcaaaa attatatggg caacttatcc caaacaagat 1140
      ctggactaac atgttcaatg tgggacaaga acatggaaga cttacatcgt catatcttct 1200
40    gggaaccaga tgcaagtaag ctgaatgaga attactgccg aaatccagat gatgatgctc 1260
      atggaccctg gtgtcacacg ggaaatccac tcattccttg ggattattgc cctatttctc 1320
      gttgtgaagg tgataccaca cctacaatag tcaatttaga ccatcccgta atatcttgtg 1380
      ccaaaaggaa acaattgcga gttgtaaatg ggattccaac acgaacaaac ataggatgga 1440
      tggttagttt gagatacaga aataaacata tctgcggagg atcattgata aaggagagtt 1500
45    gggttccttac tgcacgacag tgtttccctt ctcgagactt gaaagattat gaagcttggc 1560
      ttggaattca tgatgtccac ggaagaggag atgagaaatg caaacagggt ctcaatgttt 1620
      cccagctggg atatggccct gaaggatcag atctggtttt aatgaagctt gccaggcctg 1680
      ctgtcctgga tgattttgtt agtacgattg atttacctaa ttatggatgc acaattcctg 1740
      aaaagaccag ttgcagtgtt tatggctggg gctacactgg attgatcaac tatgatggcc 1800
50    tattacgagt ggcacatctc tatataatgg gaaatgagaa atgcagccag catcatcgag 1860
      ggaagggtgac tctgaaatgag tctgtggggc tgaaaagatt ggatcaggac 1920
      catgtgaggg ggattatggt ggcccacttg tttgtgagca acataaaatg agaatggttc 1980
      ttgggtgtcat tgttcctggg cgtggatgtg ccattccaaa tcgtcctggg atttttgtcc 2040
      gagtagcata ttatgcaaaa tggatacaca aaattatttt aacatataag gtaccacagt 2100
55    ca                                     2102

      <210> 88
      <211> 360
      <212> DNA
      <213> Homo sapiens

```

```

<300>
<302> ID3
<310> XM001539

5  <400> 88
    atgaaggcgc tgagccccgt gcgcgggtgc tacgaggcgg tgtgctgcct gtcggaacgc 60
    agtctggcca tcgccccggg ccgagggaag ggccccggcag ctgaggagcc gctgagcttg 120
    ctggacgaca tgaaccactg ctactccccg ctgcgggaac tggtagccgg agtccccgaga 180
    ggcactcagc ttagccaggt ggaaatccta cagcgcgtca tcgactacat tctcgacctg 240
10  caggtagtcc tggccgagcc agccccctgga cccccctgat gccccacac tcccatccag 300
    acagccgagc tcactccgga acttggtcatc tccaacgaca aaaggagctt ttgccactga 360

    <210> 89
    <211> 743
    <212> DNA
    <213> Homo sapiens

20  <300>
    <302> IGF2
    <310> NM000612

    <400> 89
25  atgggaatcc caatggggaa gtcgatgctg gtgcttctca ccttcttggc cttcgccctg 60
    tgctgcattg ctgcttaccg cccagtgag accctgtgcg gcggggagct ggtggacacc 120
    ctccagttcg tctgtgggga ccgcggcttc tacttcagca ggcccgcaag ccgtgtgagc 180
    cgctgcagcc gtggcatcgt tgaggagtgc tgtttccgca gctgtgacct ggccctcctg 240
    gagacgtact gtgctacccc cgccaagtcc gagagggagc tgtcgacccc tccgaccgtg 300
    cttccggaca acttccccag ataccccgtg ggcaagttct tccaatatga cacctggaag 360
30  cagtccaccc agcgctcgcg caggggcctg cctgccctcc tgcgtgcccg ccggggtcac 420
    gtgctcgcca aggagctcga ggcgttcagg gagggcaaac gtcaccgtcc cctgattgct 480
    ctaccacccc aagaccccg cccacggggc gcccccagc agatggccag caatcggaag 540
    tgagcaaaac tgccgcaagt ctgcagcccg gcgccaccat cctgcagcct cctcctgacc 600
    acggacgttt ccatcaggtt ccatcccgaa aatctctcgg ttccacgtcc ccctggggct 660
35  tctcctgacc cagtccccgt gcccgcctc cccgaaacag gctactctcc tcggccccct 720
    ccatcgggct gaggaagcac agc                                     743

    <210> 90
    <211> 7476
    <212> DNA
    <213> Homo sapiens

40  <300>
    <302> IGF2R
    <310> NM000876

    <400> 90
50  atggggggcgc ccgcgggccc gagccccac ctggggcccc cggccgcccg ccgcccgcag 60
    cgctctctgc tcctgctgca gctgctgctg ctgctgctg ccccggggtc cagcgaggcc 120
    caggccgccc cgttccccga gctgtgcagt tatacatggg aagctgttga taccaaaaat 180
    aatgtacttt ataaaatcaa catctgtgga agtgtggata ttgtccagtg cgggccatca 240
    agtgtgtgtt gtatgcacga cttgaagaca cgcacttatc attcagtggg tgactctgtt 300
    ttgagaagtg caaccagatc tctcctggaa ttcaacacaa cagtgaagctg tgaccagcaa 360
55  ggcacaaatc acagagtcca gagcagcatt gccttctctg gtgggaaaac cctgggaact 420
    cctgaatttg taactgcaac agaattgtgtg cactactttg agtggaggac cactgcagcc 480
    tgcaagaaag acatatTTaa agcaaataag gaggtgccat gctatgtgtt tgatgaagag 540
    ttgaggaagc atgatctcaa tcctctgata aagcttagtg gtgcctactt ggtggatgac 600
    tccgatccgg acacttctct attcatcaat gttttagtag acatagacac actacgagac 660
60  ccagggttcac agctgcgggg ctgtcccccc ggcaactgcc cctgcctggt aagaggacac 720
    caggcgcttg atgttgcca gccccgggac ggactgaagc tgggtgcgca ggacaggctt 780
    gtcctgagtt acgtgagggg agaggcagga aagctagact tttgtgatgg tcacagccct 840

```

	gcgggtgacta	ttacatttgt	ttgcccgtcg	gagcggagag	agggcaccat	tcccaaaactc	900
	acagctaaat	ccaactgccg	ctatgaaatt	gagtggatta	ctgagtatgc	ctgccacaga	960
	gattacctgg	aaagtaaaac	ttgttctctg	agcggcgagc	agcaggatgt	ctccatagac	1020
	ctcacaccac	ttgcccagag	cgagggttca	tcctatatatt	cagatggaaa	agaatatattg	1080
5	ttttatttga	atgtctgtgg	agaaactgaa	atacagttct	gtaataaaaa	acaagctgca	1140
	gtttgccaag	tgaaaaagag	cgatacctct	caagtcaaaag	cagcaggaag	ataccacaat	1200
	cagaccctcc	gatattcgga	tggagacctc	accttgatat	attttggagg	tgatgaatgc	1260
	agctcagggt	ttcagcggat	gagcgtcata	aactttgagt	gcaataaaac	cgcaggtaac	1320
	gatgggaaag	gaactcctgt	attcacaggg	gaggttgact	gcacctactt	cttcacatgg	1380
10	gacacggaat	acgcctgtgt	taaggagaag	gaagacctcc	tctgcggtgc	caccgacggg	1440
	aagaagcgct	atgacctgtc	cgcgctgggtc	cgccatgcag	aaccagagca	gaattgggaa	1500
	gctgtggatg	gcagtcagac	ggaaacagag	aagaagcatt	ttttcattaa	tatttgtcac	1560
	agagtgtctg	aggaaggcaa	ggcacgaggg	tgtcccgagg	acgcggcagt	gtgtgcagtg	1620
	gataaaaaatg	gaagtaaaaa	tctgggaaaa	tttatttccct	ctcccatgaa	agagaaggga	1680
15	aacattcaac	tctcttattc	agatggtgat	gattgtgggtc	atggcaagaa	aattaaaact	1740
	aatatcacac	ttgtatgcaa	gccaggtgat	ctggaaagtg	caccagtgtt	gagaacttct	1800
	ggggaaggcg	gttgctttta	tgagtttgag	tggcgcacag	ctgcggcctg	tgtgctgtct	1860
	aagacagaag	gggagaactg	cacggtcttt	gactcccagg	cagggttttc	ttttgactta	1920
	tcacctctca	caaagaaaaa	tgggtgcctat	aaagttgaga	caaagaagta	tgacttttat	1980
20	ataaatgtgt	gtggcccgggt	gtctgtgagc	cctgtgcagc	cagactcagg	agcctgccag	2040
	gtggcaaaaa	gtgatgagaa	gacttggaa	ttgggtctga	gtaatgcgaa	gctttcatat	2100
	tatgatggga	tgatccaact	gaactacaga	ggcggcacac	cctataacaa	tgaaagacac	2160
	acaccgagag	ctacgctcat	cacctttctc	tgtgatcgag	acgcgggagt	gggcttccct	2220
	gaatatcagg	aagaggataa	ctccacctac	aacttccggt	ggtacaccag	ctatgcctgc	2280
25	ccggaggagc	ccctggaatg	cgtagtgacc	gacccctcca	cgtcggagca	gtacgacctc	2340
	tccagtctgg	caaaatctga	aggtggcctt	ggaggaaact	ggtatgccat	ggacaactca	2400
	ggggaacatg	tcacgtggag	gaaatactac	attaacgtgt	gtcggcctct	gaatccagtg	2460
	ccgggctgca	accgatatgc	atcggtctgc	cagatgaagt	atgaaaaaga	tcagggtctc	2520
	ttcactgaag	tggtttccat	cagtaacttg	ggaatggcaa	agaccggccc	ggtggttgag	2580
30	gacagcggca	gcctccttct	ggaatacgtg	aatgggtcgg	cctgcaccac	cagcgtgggc	2640
	agacagacca	catataccac	gaggatcctc	ctcgtctgct	ccaggggcag	gctgaacagc	2700
	caccccactct	tttctctcaa	ctgggagtg	gtggtcagtt	tcctgtggaa	cacagaggct	2760
	gcctgtccca	ttcagacaac	gacggataca	gaccaggctt	gctctataag	ggatcccaac	2820
	agtggatttg	tgtttaatct	taatccgcta	aacagttcgc	aaggatataa	cgtctctggc	2880
35	attgggaaga	tttttatgtt	taatgtctgc	ggcacaatgc	ctgtctgtgg	gaccatcctg	2940
	ggaaaaacctg	cttctggctg	tgaggcagaa	acccaaactg	aagagctcaa	gaattggaag	3000
	ccagcaaggc	cagtcggaat	tgagaaaagc	ctccagctgt	ccacagaggg	cttcactact	3060
	ctgacctaca	aagggcctct	ctctgccaaa	ggtaccgctg	atgcttttat	cgtccgcttt	3120
	gtttgcaatg	atgatgttta	ctcaggggccc	ctcaaattcc	tgcatacaaga	tatcgactct	3180
40	gggcaaggga	tccgaaacac	ttacttttag	tttgaaccg	cgttggcctg	tgttccttct	3240
	ccagtggact	gccaaagtac	cgacctggct	ggaatgagt	acgacctgac	tggcctaagc	3300
	acagtcagga	aaccttggac	ggctgttgac	acctctgtcg	atgggagaaa	gaggactttc	3360
	tatttgagcg	tttgcaatcc	tctcccttac	attcctggat	gccagggcag	cgcagtgggg	3420
	tcttgcttag	tgtcagaagg	caatagctgg	aatctgggtg	tgggtcagat	gagtccccaa	3480
45	gccgcggcga	atggatcttt	gagcatcatg	tatgtcaacg	gtgacaagtg	tgggaaccag	3540
	cgcttctcca	ccaggatcac	gtttgagtgt	gctcagatat	cgggctcacc	agcatttcag	3600
	cttcaggatg	gttgtgagta	cgtgtttatc	tggagaactg	tggaaagcctg	tcccgttgtc	3660
	agagtggaa	gggacaactg	tgaggtgaaa	gacccaaggc	atggcaactt	gtatgacctg	3720
	aagcccctgg	gcctcaacga	caccatcgtg	agcgtggcg	aatacactta	ttacttccgg	3780
50	gtctgtggga	agctttcctc	agacgtctgc	cccacaagtg	acaagtccaa	ggtggtctcc	3840
	tcatgtcagg	aaaagcggga	accgcaggga	tttcacaaag	tggcaggtct	cctgactcag	3900
	aagctaaactt	atgaaaaatg	cttgtaaaa	atgaaactta	cgggggggga	cacttgccat	3960
	aagggttatc	agcgtccac	agccatcttc	ttctactgtg	accgcggcac	ccagcggcca	4020
	gtatttctaa	aggagacttc	agattgttcc	tacttgtttg	agtggcgaa	gcagtatgcc	4080
55	tgccccacctt	tcgatctgac	tgaatgttca	ttcaaagatg	gggctggcaa	ctccttcgac	4140
	ctctcgtccc	tgtaaggta	cagtgaaca	tgggaagcca	tcactgggac	gggggacccg	4200
	gagcactacc	ctgcaatgt	ctggaagctc	tgggcccg	aggctggcac	tgagccgtgc	4260
	cctccagaag	cagccgcgtg	tctgctgggt	ggctccaagc	ccgtgaacct	cggcagggtg	4320
	agggacggac	ctcagtggag	agatggcata	attgtcctga	aatacgttga	tggcgactta	4380
60	tgtccagatg	ggattcggaa	aaagtcaacc	accatccgat	tcacctgcag	cgagagccaa	4440
	gtgaactcca	ggcccatgtt	catcagcgcc	gtggaggact	gtgagtacac	ctttgcctgg	4500
	cccacagcca	cagcctgtcc	catgaagagc	aacgagcatg	atgactgcca	ggtcaccaac	4560

5 ccaagcacag gacacctgtt tgatctgagc tccttaagtgcagggcgagg attcacagct 4620
 gcttacacgc agaaggggtt gggtttacatg agcatctgtg gggagaatga aaactgccct 4680
 cctggcggtg gggcctgctt tggacagacc aggattagcg tgggcaaggc caacaagagg 4740
 ctgagatacg tggaccaggt cctgcagctg gtgtacaagg atgggtcccc ttgtccctcc 4800
 10 aaatccggcc tgagctataa gagtgtgatc agtttcgtgt gcaggcctga ggccggggcca 4860
 accaataggc ccatgtctcat ctccctggac aagcagacat gcactctctt cttctccttg 4920
 cacacgccgc tggcctgcga gcaagcgacc gaatgttccg tgaggaatgg aagctctatt 4980
 gttgacttgt ctcccccttat tcatcgcaact ggtggttatg aggcttatga tgagagttag 5040
 gatgatgcct ccgataccaa ccctgatttc tacatcaata tttgtcagcc actaaatccc 5100
 15 atgcacgcag tgccctgtcc tgccggagcc gctgtgtgca aagttcctat tgatgggtccc 5160
 cccatagata tcggccgggt agcaggacca ccaatactca atccaatagc aaatgagatt 5220
 tacttgaatt ttgaaagcag tactccttgc ttagcggaca agcattttcaa ctacacctcg 5280
 ctcatcgctg ttactgttaa gagaggtgtg agcatgggaa cgcctaagct gttaaggacc 5340
 agcgagtgcg acttttgtgt cgaatgggag actcctgtcg tctgtcctga tgaagttagg 5400
 20 atggatggct gtaccctgac agatgagcag ctccctcaca gcttcaactt gtccagcctt 5460
 tccacgagca cctttaagggt gactcgcgac tcgcgcacct acagcggttg ggtgtgcacc 5520
 tttgcagtcg ggccagaaca aggaggtgtt aaggacggag gagtctgtct gctctcaggg 5580
 accaaggggg catccttttg acggtgcaa tcaatgaaac tggattacag gcaccaggat 5640
 gaagcggctg ttttaagtta cgtgaatggt gatcggtgcc ctccagaaac cgtgacggc 5700
 25 gtccctgtg tgctccctt catattcaat gggaagagct acgaggagtg catcatagag 5760
 agcaggcgca agctgtgtg tagcacaact gcggactacg acagagacca cgagtggggc 5820
 ttctgcagac actcaaacag ctaccggaca tccagcatca tatttaagtg tgatgaagat 5880
 gaggacattg ggaggccaca agtcttcagt gaagtgcgtg ggtgtgatgt gacatttgag 5940
 tggaaaacaa aagttgtctg cctccaaag aagttggagt gcaaattcgt ccagaaacac 6000
 30 aaaacctag acctgagggt gctctcctct ctacccgggt cctggctcctt ggtccacaac 6060
 ggagtctcgt actatataaa tctgtgccag aaaatatata aagggcccct gggctgctct 6120
 gaaagggcca gcatttgcag aaggaccaca actggtgacg tccaggctctt gggactcgtt 6180
 cacacgcaga agctgggtgt cataggtgac aaagttgttg tcacgtactc caaaggttat 6240
 ccgtgtgtgt gaaataagac cgcacccctc gtgatagaat tgacctgtac aaagacgggt 6300
 35 ggcagacctg cattcaagag gtttgatata gacagctgca cttactactt cagctgggac 6360
 tcccgggctg cctgcgccgt gaagcctcag gaggtgcaga tgggtgaatgg gacctcacc 6420
 aaccctataa atggcaagag cttcagcctc ggagatattt attttaagct gttcagagcc 6480
 tctggggaca tgaggaccaa tggggacaac tacctgtatg agatccaact ttctccatc 6540
 acaagctcca gaaaccggc gtgctctgga gccaacatat gccaggtgaa gcccaacgat 6600
 40 cagcacttca gtcggaaaagt tggaacctct gacaagacca agtactacct tcaagacggc 6660
 gatctcgatg tcgtgtttgc ctcttctctt aagtgcggaa aggataagac caagtctgtt 6720
 tcttccacca tcttcttcca ctgtgacctt ctgggtggagg acgggatccc cgagtctagt 6780
 cagcagactg ccgactgcca gtacctcttc tcttggtaca cctcagccgt gtgtcctctg 6840
 ggggtgggct ttgacagcga gaatcccggt gacgacgggc agatgcacaa ggggtgtgca 6900
 45 gaacggagcc aggcagtcgg cgcggtgctc agcctgctgc tggtggcgct cacctgctgc 6960
 ctgctggccc tggtgctcta caagaaggag aggaggaaa cagtataag taagtgtacc 7020
 acttgctgta ggagaagttc caacgtgtcc taaaaatact caaaggtgaa taaggaagaa 7080
 gagacagatg agaatgaaac agagtggctg atggaagaga tccagctgcc tcctccacgg 7140
 cagggaaaagg aagggcagga gaacggccat attaccacca agtcagttaa agccctcagc 7200
 50 tccctgcatg gggatgacca ggacagttag gatgaggttc tgaccatccc agaggtgaaa 7260
 gttcactcgg gcaggggagc tggggcagag agctcccacc cagtgaagaa cgacagagc 7320
 aatgcccttc aggagcgtga ggacgatagg gtggggctgg tcaggggtga gaaggcgagg 7380
 aaaggggaagt ccagctctgc acagcagaag acagtgaagt ccaccaagct ggtgtccttc 7440
 catgacgaca gcgacgagga cctcttacac atctga 7476

<210> 91

<211> 4104

<212> DNA

55 <213> Homo sapiens

<300>

<302> IGF1R

<310> NM000875

60

<400> 91

atgaagtctg gctccggagg aggggtcccc acctcgctgt gggggctcct gtttctctcc 60

	gcgcgcgtct	cgctctggcc	gacgagtgga	gaaatctgcg	ggccaggcat	cgacatccgc	120
	aacgactatc	agcagctgaa	gcgcctggag	aactgcacgg	tgatcgaggg	ctacctccac	180
	atcctgctca	tctccaaggc	cgaggactac	cgcagctacc	gcttccccaa	gctcacgggc	240
	attaccgagt	acttgctgct	gttccgagtg	gctggcctcg	agagcctcgg	agacctcttc	300
5	cccaacctca	cggtcatccg	cggttgaaa	ctcttctaca	actacgccct	ggtcactctc	360
	gagatgacca	atctcaagga	tattgggctt	tacaacctga	ggaacattac	tcggggggcc	420
	atcaggattg	agaaaaatgc	tgacctctgt	tacctctcca	ctgtggactg	gtccctgatc	480
	ctggatgctg	tgtccaataa	ctacattgtg	gggaataagc	ccccaaagga	atgtggggac	540
	ctgtgtccag	ggaccatgga	ggagaagccg	atgtgtgaga	agaccaccat	caacaatgag	600
10	tacaactacc	gctgctggac	cacaaaccgc	tgccagaaaa	tgtgcccag	cacgtgtggg	660
	aagcgggctg	gcaccgagaa	caatgagtg	tgccaccccg	agtgcctggg	cagctgacgc	720
	gcgcctgaca	acgacacggc	ctgtgtagct	tgccgccact	actactatgc	cgggtgtctgt	780
	gtgcctgcct	gcccgcccaa	cacctacagg	tttgagggtc	ggcgtgtgt	ggaccgtgac	840
	ttctgcgcca	acatcctcag	cgccgagagc	agcgactccg	aggggtttgt	gatccacgac	900
15	ggcgagtga	tgaggagtg	cccctcgggc	ttcatccgca	acggcagcca	gagcatgtac	960
	tgcatccctt	gtgaagggtc	ttgcccgaa	gtctgtgagg	aagaaaagaa	aacaaagacc	1020
	attgattctg	ttactttctg	tcagatgctc	caaggatgca	ccatcttcaa	gggcaatttg	1080
	ctcattaaca	tccgacgggg	gaataacatt	gcttcagagc	tggagaactt	catggggctc	1140
	atcgagggtg	tgacggggcta	cgtgaagatc	cgccattctc	atgccttggg	ctccttgtcc	1200
20	ttcctaataa	accttcgcct	catcctagga	gaggagcagc	tagaaggga	ttactccttc	1260
	tacgtcctcg	acaaccagaa	cttgacgcaa	ctgtgggact	gggaccaccg	caacctgacc	1320
	atcaaagcag	ggaaaatgta	ctttgctttc	aatcccaaat	tatgtgtttc	cgaaatttac	1380
	cgcatggagg	aagtgcgggg	gactaaaggg	cgccaaagca	aaggggacat	aaacaccagg	1440
	aacaacgggg	agagagcctc	ctgtgaaagt	gacgtcctgc	atttcacctc	caccaccacg	1500
25	tcgaagaatc	gcatacatcat	aacctggcac	cggtagccgg	cccctgacta	cagggatctc	1560
	atcagcttca	ccgtttacta	caaggaagca	ccctttaaga	atgtcacaga	gtatgatggg	1620
	caggatgcct	gcggctccaa	cagctggaa	atggtggacg	tggacctccc	gccccaaag	1680
	gacgtggagc	ccggcatctt	actacatggg	ctgaagccct	ggactcagta	cgccgtttac	1740
	gtcaaggctg	tgaccttcac	catggtggag	aacgaccata	tccgtggggc	caagagttag	1800
30	atcttgtaca	ttcgcaccaa	tgcttcagtt	ccttccattc	ccttggacgt	tctttcagca	1860
	tcgaactcct	cttctcagtt	aatcgtgaag	tggaaccctc	cctctctgcc	caacgcgacc	1920
	ctgagttact	acattgtgcg	ctggcagcgg	cagcctcagg	acggctacct	ttaccggcac	1980
	aattactgct	ccaaagacaa	aatccccatc	aggaagtatg	ccgacggcac	catcgacatt	2040
	gaggagggtca	cagagaaccc	caagactgag	gtgtgtgggtg	gggagaaagg	gccttgcctg	2100
35	gcctgcccc	aaactgaagc	cgagaagcag	gccgagaagg	aggaggtga	ataccgcaa	2160
	gtctttgaga	atttctgca	caactccatc	ttctgtccca	gacctgaaag	gaagcggaga	2220
	gatgtcatgc	aatgtggcaa	caccaccatg	tccagccgaa	gcaggaaac	cacggccgca	2280
	gacacctaca	acatcaccca	cccgaagag	ctggagacag	agtacccttt	ctttgagagc	2340
	agagtggata	acaaggagag	aactgtcatt	tctaactctc	ggcctttcac	attgtaccgc	2400
40	atcgatatcc	acagctgcaa	ccacgaggt	gagaagctgg	gctgcagcgc	ctccaacttc	2460
	gtctttgcaa	ggactatgcc	cgcagaagga	gcagatgaca	ttcctggggc	agtgactggg	2520
	gagccaagcg	ctgaaaactc	catcttttta	aagtggccgg	aacctgagaa	tcccaatgga	2580
	ttgattctaa	tgtatgaaat	aaaatacggg	tcacaagttg	aggatcagcg	agaatgtgtg	2640
	tccagacagg	aatacaggaa	gtatggaggg	gccaagctaa	accggctaaa	cccggggaa	2700
45	tacacagccc	ggattcaggc	cacatctctc	tctgggaatg	ggctgtggac	agatcctgtg	2760
	ttcttctatg	tccaggccaa	aacaggatat	gaaaacttca	tccatctgat	catcgctctg	2820
	cccgtcgctg	tctgtttgat	cgtgggaggg	ttggtgatta	tgctgtacgt	cttccataga	2880
	aagagaaata	acagcaggct	ggggaaatgga	gtgctgtatg	cctctgtgaa	cccggagtac	2940
	ttcagcgctg	ctgatgtgta	cgttcctgat	gagtgggagg	tggctcggga	gaagatcacc	3000
50	atgagccggg	aacttgggca	ggggctcgtt	gggatggct	atgaaggagt	tgccaagggt	3060
	tggttgaaag	atgaacctga	aaccagagtg	gccattaaaa	cagtgaacga	ggccgcgaag	3120
	atgcgtgaga	ggattgagtt	tctcaacgaa	gcttctgtga	tgaaggagtt	caattgtcac	3180
	catgtggtgc	gattgctggg	tgtggtgtcc	caaggccagc	caacactggg	catcatggaa	3240
	ctgatgacac	ggggcgatct	caaaagtatt	ctccggtctc	tgaggccaga	aatggagaat	3300
55	aatccagtc	tagcactctc	aagcctgagc	aagatgattc	agatggccgg	agagattgca	3360
	gacggcatgg	catactcaa	cgccaataag	ttcgtccaca	gagaccttgc	tgcccggaat	3420
	tgcatggtag	ccgaagattt	cacagtgaaa	atcggagatt	ttggtatgac	gcgagatc	3480
	tatgagacag	actattaccg	gaaaggaggc	aaagggtctg	tgcccggtgc	ctggatgtct	3540
	cctgagtc	tcaaggatgg	agtcttcacc	acttactcgg	acgtctggtc	cttcgggggtc	3600
60	gtcctctggg	agatcgccac	actggccgag	cagccctacc	agggcttgct	caacgagcaa	3660
	gtccttcgct	tcgtcatgga	ggggcgccct	ctggacaagc	cagacaactg	tctgacatg	3720
	ctgtttgaac	tgatgcgcac	gtgctggcag	tataacccca	agatgaggcc	ttccttctct	3780

```

5      gagatcatca gcagcatcaa agaggagatg gagcctggct tccggggaggt ctccttctac 3840
      tacagcgagg agaacaagct gcccgagccg gaggagctgg acctggagcc agagaacatg 3900
      gagagcgtcc ccctggaccc ctcggcctcc tcgtcctccc tgccactgcc cgacagacac 3960
      tcaggacaca aggccgagaa cggccccggc cctgggggtgc tggctcctccg cgccagcttc 4020
      gacgagagac agccttacgc ccacatgaac ggggggccga agaacgagcg ggccttgccg 4080
      ctgccccagt cttcgacctg ctga                                     4104

<210> 92
10    <211> 726
      <212> DNA
      <213> Homo sapiens

<300>
15    <302> PDGFB
      <310> NM002608

<400> 92
20    atgaatcgct gctggggcgct cttcctgtct ctctgctgct acctgcgtct ggtcagcgcc 60
      gaggggggacc ccattcccgga ggagctttat gagatgctga gtgaccactc gatccgctcc 120
      tttgatgatc tccaacgcct gctgcacgga gaccccgag aggaagatgg ggccgagttg 180
      gacctgaaca tgaccgcgtc ccactctgga ggcgagctgg agagcttggc tcgtggaaga 240
      aggagcctgg gttccctgac cattgctgag ccggccatga tcgccgagtg caagacgcgc 300
      accgaggtgt tcgagatctc ccggcgctct atagaccgca ccaacgcaa cttcctgggtg 360
25    tggccgcctt gtgtggaggt gcagcgctgc tccggctgct gcaacaaccg caactgtcag 420
      tgccgccccca cccaggtgca gctgcgacct gtccaggtga gaaagatcga gattgtgcgg 480
      aagaagccaa tctttaagaa ggccacgggt acgctggaag accacctggc atgcaagtgt 540
      gagacagtgg cagctgcacg gcctgtgacc cgaagcccg ggggttccca ggagcagcga 600
      gccaaaacgc cccaaactcg ggtgaccatt cggacgggtg gagtccgccg gcccccaag 660
30    ggcaagcacc ggaaattcaa gcacacgcat gacaagacgg cactgaagga gacccttgga 720
      gcctag                                     726

<210> 93
35    <211> 1512
      <212> DNA
      <213> Homo sapiens

<300>
40    <302> TGFbetaR1
      <310> NM004612

<400> 93
45    atggaggcgg cggtcgctgc tccgcgtccc cggctgctcc tctcgtgct ggccggcgcg 60
      gcggcgggcg cgccggcgct gctcccgggg gcgacggcgt tacagtgttt ctgccacctc 120
      tgtacaaaag acaattttac ttgtgtgaca gatgggctct gctttgtctc tgtcacagag 180
      accacagaca aagttataca caacagcatg tgtatagctg aaattgactt aattcctcga 240
      gataggccgt ttgtatgtgc accctcttca aaaactgggt ctgtgactac aacatattgc 300
      tgcaatcagg accattgcaa taaaatagaa ctccaacta ctgtaaagtc atcacctggc 360
50    cttgggtcctg tggaaactggc agctgtcatt gctggaccag tgtgcttcgt ctgcatctca 420
      ctcatgttga tgggtctatat ctgccacaac cgcactgtca ttcaccatcg agtgccaaat 480
      gaagaggacc cttcattaga tcgccctttt atttcagagg gtactacgtt gaaagactta 540
      atttatgata tgacaacgctc aggttctggc tcagggtttac cattgcttgt tcagagaaca 600
      attgcgagaa ctatttgtgt acaagaaagc attggcaaag gtcgatttgg agaagtttgg 660
55    agaggaaagt ggcgggggaga agaagttgct gttaaagata tctcctctag agaagacgt 720
      tcgtgggttc gtgaggcaga gatttatcaa actgtaatgt tacgtcatga aaacatcctg 780
      ggatttatag cagcagacaa taaagacaat ggtacttgga ctcagctctg gttggtgtca 840
      gattatcatg agcatggatc cctttttgat tacttaaaaca gatacacagt tactgtggaa 900
      ggaatgataa aacttgctct gtccacggcg agcggctctg cccatcttca catggagatt 960
60    gttgggtaccc aaggaaagcc agccattgct catagagatt tgaaatcaaa gaatatcttg 1020
      gtaaaagaaga atggaaactg ctgtattgca gacttaggac tggcagtaag acatgattca 1080
      gccacagata ccattgatat tgcctccaaac cacagagtgg gaacaaaaag gtacatggcc 1140

```

	cctgaagttc	tcgatgattc	cataaatatg	aaacattttg	aatccttcaa	acgtgctgac	1200
	atctatgcaa	tgggcttagt	attctgggaa	attgctcgac	gatgttccat	tgggtgaatt	1260
	catgaagatt	accaactgcc	ttattatgat	cttgtagcct	ctgacccatc	agttgaagaa	1320
	atgagaaaag	ttgtttgtga	acagaagtta	aggccaaata	tcccaaacag	atggcagagc	1380
5	tgtgaagcct	tgagagtaat	ggctaaaatt	atgagagaat	gttgggtatgc	caatggagca	1440
	gctaggcctta	cagcattgcg	gattaagaaa	acattatcgc	aactcagtca	acaggaaggc	1500
	atcaaaatgt	aa					1512
10	<210> 94						
	<211> 4044						
	<212> DNA						
	<213> Homo sapiens						
15	<300>						
	<302> Flk1						
	<310> AF035121						
	<400> 94						
20	atgcagagca	agggtgctgct	ggccgctcgcc	ctgtggctct	gcgtggagac	ccgggccgcc	60
	tctgtggggt	tgcctagtgt	ttctcttgat	ctgcccaggc	tcagcataca	aaaagacata	120
	cttacaatta	aggctaatac	aactcttcaa	attacttgca	ggggacagag	ggacttggac	180
	tggctttggc	ccaataatca	gagtggcagt	gagcaaaggg	tggaggtgac	tgagtgcagc	240
	gatggcctct	tctgtaagac	actcacaatt	ccaaaagtga	tcggaaatga	cactggagcc	300
25	tacaagtgtc	tctaccggga	aactgacttg	gcctcgggtca	tttatgtcta	tgttcaagat	360
	tacagatctc	catttattgc	ttctgttagt	gaccaacatg	gagtcgtgta	cattactgag	420
	aacaaaaaca	aaactgtggt	gattccatgt	ctcgggtcca	tttcaaatct	caacgtgtca	480
	ctttgtgcaa	gatacccaga	aaagagattt	gttctctgat	gtaacagaat	ttcctgggac	540
	agcaagaagg	gctttactat	tcccagctac	atgatcagct	atgctggcat	ggtcttctgt	600
30	gaagcaaaaa	ttaatgatga	aagttaccag	tctattatgt	acatagttgt	cgttgtaggg	660
	tataggattt	atgatgtggt	tctgagtcgc	tctcatggaa	ttgaactatc	tggttgagaa	720
	aagcttgtct	taaattgtac	agcaagaact	gaactaaatg	tggggattga	cttcaactgg	780
	gaataccctt	cttcgaagca	tcagcataag	aaacttgtaa	accgagacct	aaaaaccag	840
	tctgggagtg	agatgaagaa	atttttgagc	accttaacta	tagatgggtg	aaccggagt	900
35	gaccaaggat	tgtacacctg	tgcagcatcc	agtgggctga	tgaccaagaa	gaacagcaca	960
	tttgtcaggg	tccatgaaaa	accttttggt	gcttttgga	gtggcatgga	atctctggtg	1020
	gaagccacgg	tgggggagcg	tgtcagaatc	cctgcgaagt	accttgggta	cccacccca	1080
	gaaataaaat	ggtataaaaa	tggaaatccc	cttgagtcca	atcacacaat	taaagcgggg	1140
	catgtactga	cgattatgga	agtgaagtga	agagacacag	gaaattacac	tgtcatcctt	1200
40	accaatccca	tttcaaagga	gaagcagagc	catgtggtct	ctctggttgt	gtatgtccca	1260
	cccagatttg	gtgagaatc	tctaactctc	cctgtggatt	cctaccagta	cggcaccact	1320
	caaagcgtga	catgtacggt	ctatgccatt	cctccccgc	atcacatcca	ctggtattgg	1380
	cagttggagg	aagagtgcgc	caacgagccc	agccaagctg	tctcagtgc	aaaccatac	1440
	ccttgtgaag	aatggagaag	tgtggaggac	ttccagggag	gaaataaaat	tgaagttaat	1500
45	aaaaatcaat	ttgctcta	tgaaggaaaa	aacaaaactg	taagtacctt	tgttatccaa	1560
	gcggcaaatg	tgtcagcttt	gtacaaatgt	gaagcgggtc	acaaagtcgg	gagaggagag	1620
	aggggtgatct	ccttccacgt	gaccaggggt	cctgaaatta	ctttgcaacc	tgacatgcag	1680
	cccactgagc	aggagagcgt	gtctttgtgg	tgcactgcag	acagatctac	gttttgagaac	1740
	ctcacatggt	acaagcttgg	cccacagcct	ctgccaatcc	atgtgggaga	gttgccaca	1800
50	cctgttttgc	agaacttgg	tactcttttg	aaattgaatg	ccaccatggt	ctctaatagc	1860
	acaaatgaca	ttttgatcat	ggagcttaag	aatgcacctt	tgcaggacca	aggagactat	1920
	gtctgccttg	ctcaagacag	gaagaccaag	aaaagacatt	gcgtgggtcag	gcagctcaca	1980
	gtcctagagc	gtgtggcacc	cacgatcaca	ggaacctgg	agaatcagac	gacaagtatt	2040
	ggggaaagca	tcgaagtctc	atgcacggca	tctgggaatc	cccctccaca	gatcatgtgg	2100
55	tttaaagata	atgagaccct	tgtagaagac	tcaggcattg	tattgaagga	tgggaaccgg	2160
	aacctcacta	tccgagagt	gaggaaggag	gacgaaggcc	tctacacctg	ccaggcatgc	2220
	agtgttcttg	ctgtgtgcaa	agtggaggca	tttttcataa	tagaagggtg	ccaggaaaag	2280
	acgaacttgg	aaatcattat	tctagtaggc	acggcgggtg	ttgccatgtt	cttctggcta	2340
	cttcttgtca	tcatcctacg	gaccgttaag	cgggccaatg	gaggggaact	gaagacaggc	2400
60	tacttgtcca	tcgtcatgga	tccagatgaa	ctccatttgg	atgaacattg	tgaacgactg	2460
	cttatgatg	ccagcaaatg	ggaattcccc	agagaccggc	tgaagctagg	taagcctctt	2520
	ggccgtgggtg	cctttggcca	agtgattgaa	gcagatgcct	ttggaattga	caagacagca	2580

5 acttgacagga cagtagcagt caaaatgttg aaagaaggag caacacacag tgagcatcga 2640
 gctctcatgt ctgaactcaa gatcctcatt catatttggtc accatctcaa tgtgggtcaac 2700
 cttctaggtg cctgtaccaa gccaggaggg ccactcatgg tgatttgtgga attctgcaaa 2760
 tttggaacc tgtccactta cctgaggagc aagagaaatg aatttgctcc ctacaagacc 2820
 aaaggggcac gattccgtca agggaaagac tacgttgag caatccctgt ggatctgaaa 2880
 cggcgcttgg acagcatcac cagtagccag agctcagcca gctctggatt tgtggaggag 2940
 aagtccctca gtgatgtaga agaagaggaa gctcctgaag atctgtataa ggacttcctg 3000
 accttggagc atctcatctg ttacagcttc caagtggcta agggcatgga gttcttggca 3060
 tcgcgaaagt gtatccacag ggacctggcg gcacgaaata tcctcttatac ggagaagaac 3120
 10 gtgggttaaaa tctgtgactt tggcttggcc cgggatattt ataaagatcc agattatgtc 3180
 agaaaaggag atgctcgctt ccctttgaaa tggatggccc cagaaacaat ttttgacaga 3240
 gtgtacacaa tccagagtga cgtctggtct tttggtgttt tgctgtggga aatattttcc 3300
 ttaggtgctt ctccatatcc tggggtaaaag attgatgaag aattttgtag gcgattgaaa 3360
 gaaggaacta gaatgagggc ccttgattat actacaccag aaatgtacca gaccatgctg 3420
 15 gactgctggc acggggagcc cagtcagaga cccacgtttt cagagtgggt ggaacatttg 3480
 ggaaatctct tgcaagctaa tgctcagcag gatggcaaag actacattgt tcttccgata 3540
 tcagagactt tgagcatgga agaggattct ggactctctc tgcctacctc acctgtttcc 3600
 tgtatggagg aggaggaagt atgtgacccc aaattccatt atgacaacac agcaggaatc 3660
 agtcagtatc tgcaagaacag taagcgaaaag agccggcctg tgagtgtaaa aacatttgaa 3720
 20 gatatcccgt tagaagaacc agaagtaaaa gtaatcccag atgacaacca gacggacagt 3780
 ggtatggttc ttgctcaga agagctgaaa actttggaag acagaaccaa attatctcca 3840
 tcttttggtg gaatgggtgcc cagcaaaagc agggagtctg tggcatctga aggctcaaac 3900
 cagacaagcg gctaccagtc cggatatcac tccgatgaca cagacaccac cgtgtactcc 3960
 agtgaggaag cagaactttt aaagctgata gagattggag tgcaaacggg tagcacagcc 4020
 25 cagattctcc agcctgactc gggg 4044

<210> 95
 <211> 4017
 30 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<300>
 <302> Flt1
 35 <310> AF063657

<400> 95
 atgggtcagct actgggacac cggggtcctg ctgtgcgcgc tgctcagctg tctgcttctc 60
 acaggatcta gttcaggttc aaaattaaaa gatcctgaac tgagtttaaa aggcacccag 120
 40 cacatcatgc aagcaggcca gacactgcat ctccaatgca ggggggaagc agcccataaa 180
 tggctcttgc ctgaaatggg gagtaaggaa agcgaaagc tgagcataac taaatctgcc 240
 tgtggaagaa atggcaaaca attctgcagt actttaacct tgaacacagc tcaagcaaac 300
 cactactggct tctacagctg caaatatcta gctgtacctt cttcaaagaa gaaggaaaca 360
 45 gaatctgcaa tctatatatt tattagtgat acaggtagac ctttcgtaga gatgtacagt 420
 gaaatccccg aaattatata catgactgaa ggaagggagc tcgtcattcc ctgccgggtt 480
 acgtcaccta acatcactgt tactttaaaa aagtttccac ttgacacttt gatccctgat 540
 ggaaaacgca taatctggga cagttagaag ggcttcatca tatcaaatgc aacgtacaaa 600
 gaaatagggc ttctgacctg tgaagcaaca gtcaatgggc atttgtataa gacaaactat 660
 ctacacacat gacaaaccaa tacaatcata gatgtccaaa taagcacacc acgcccagtc 720
 50 aaattactta gaggccatac tcttgtcctc aattgtactg ctaccactcc cttgaacacg 780
 agagttcaaa tgacctggag ttacctgat gaaaaaata agagagcttc cgtaaggcga 840
 cgaattgacc aaagcaattc ccattgcaac atattctaca gtgttcttac tattgacaaa 900
 atgcagaaca aagacaaagg actttatact tgtcgtgtaa ggagtggacc atcattcaaa 960
 tctgttaaca cctcagtgc tatatatgat aaagcattca tcaactgtgaa acatcgaaaa 1020
 55 cagcaggtgc ttgaaaccgt agctggcaag cggctcttacc ggctctctat gaaagtgaag 1080
 gcatttccct cgccggaagt tgtatgggta aaagatgggt tacctgcgac tgagaaatct 1140
 gctcgctatt tgactcgtgg ctactcgtta attatcaagg acgtaactga agaggatgca 1200
 ggggaattata caatcttgct gagcataaaa cagtcaaatg tgtttaaaaa cctcactgcc 1260
 actctaattg tcaatgtgaa accccagatt tacgaaaagg ccgtgtcatc gtttccagac 1320
 60 ccggctctct accactggg cagcagacaa atcctgactt gtaccgcata tggatccctt 1380
 caacctacaa tcaagtgggt ctggacccc atcattccga agcaagggtg 1440
 gacttttgtt ccaataatga agagtccttt atcctggatg ctgacagcaa catgggaaac 1500

	agaattgaga	gcatacactca	gcgcattggca	ataatagaag	gaaagaataa	gatggctagc	1560
	accttggttg	tggttgactc	tagaatttct	ggaatctaca	tttgcatagc	ttccaataaa	1620
	gttgggactg	tggaagaaa	cataagcttt	tatatcacag	atgtgccaaa	tgggtttcat	1680
	gttaacttgg	aaaaaatgcc	gacggaagga	gaggacctga	aactgtcttg	cacagttaac	1740
5	aagtctctat	acagagacgt	tacttggatt	ttactgcgga	cagttaataa	cagaacaatg	1800
	cactacagta	ttagcaagca	aaaaatggcc	atcactaagg	agcactccat	cactcttaat	1860
	cttaccatca	tgaatgtttc	cctgcaagat	tcaggcacct	atgcctgcag	agccaggaat	1920
	gtatacacag	gggaagaaat	cctccagaag	aaagaaatta	caatcagaga	tcaggaagca	1980
	ccatacctcc	tgcgaaacct	cagtgatcac	acagtggcca	tcagcagttc	caccacttta	2040
10	gactgtcatg	ctaattggtg	ccccgagcct	cagatcactt	ggtttaaaaa	caaccacaaa	2100
	atacaacaag	agcctggaat	tatttttagga	ccaggaagca	gcacgctggt	tattgaaaga	2160
	gtcacagaag	aggatgaagg	tgtctatcac	tgcaaaagcca	ccaaccagaa	gggctctgtg	2220
	gaaagtccag	catacctcac	tgttcaagga	acctcggaca	agtctaatac	ggagctgac	2280
	actctaacat	gcacctgtgt	ggctgcgact	ctcttctggc	tcctattaac	cctctttatc	2340
15	cgaaaaatga	aaaggctctt	ttctgaaata	aagactgact	acctatcaat	tataatggac	2400
	ccagatgaag	ttccttttga	tgagcagtg	gagcggctcc	cttatgatgc	cagcaagtgg	2460
	gagtttggcc	gggagagact	taaaactggc	aaatcacttg	gaagaggggc	ttttggaaaa	2520
	gtggttcaag	catcagcatt	tggtcatga	aaatcaccta	cgtgccggac	tgtggctgtg	2580
	aaaatgctga	aagagggggc	cacggccagc	gagtacaaag	ctctgatgac	tgagctaaaa	2640
20	atcttgaccc	acattggcca	ccatctgaac	gtggttaacc	tgctgggagc	ctgcaccaag	2700
	caaggagggc	ctctgatggt	gattgttgaa	tactgcaaat	atggaaatct	ctccaactac	2760
	ctcaagagca	aacgtgactt	attttttctc	aacaaggatg	cagcactaca	catggagcct	2820
	aagaaagaaa	aaatggagcc	aggcctggaa	caaggcaaga	aaccaagact	agatagcgct	2880
	accagcagcg	aaagctttgc	gagctccggc	tttcagggaag	ataaaagtct	gagtgatgtt	2940
25	gaggaagagg	aggattctga	cggtttctac	aaggagccca	tcactatgga	agatctgatt	3000
	tcttacagtt	ttcaagtggc	cagaggcatg	gagttcctgt	cttcagaaa	gtgcattcat	3060
	cgggacctgg	cagcgagaaa	cattctttta	tctgagaaca	acgtggtgaa	gatttgtgat	3120
	tttgcccttg	cccgggatat	ttataagaac	cccgattatg	tgagaaaagg	agatactcga	3180
	cttcctctga	aatggatggc	tcctgaatct	atctttgaca	aaatctacag	caccaagagc	3240
30	gacgtgtggt	cttacggagt	attgctgtgg	gaaatcttct	ccttaggtgg	gtctccatac	3300
	ccaggagtac	aaatggatga	ggacttttgc	agtcgcctga	gggaaggcat	gaggatgaga	3360
	gctcctgagt	actctactcc	tgaaatctat	cagatcatgc	tggactgctg	gcacagagac	3420
	ccaaaagaaa	ggccaagatt	tgcagaactt	gtggaaaaac	taggtgattt	gcttcaagca	3480
	aatgtacaac	aggatggtaa	agactacatc	ccaatcaatg	ccatactgac	aggaaatagt	3540
35	gggtttacat	actcaactcc	tgccttctct	gaggacttct	tcaaggaaaag	tatttcagct	3600
	ccgaagttaa	attcaggaag	ctctgatgat	gtcagatatg	taaatgcttt	caagttcatg	3660
	agcctggaaa	gaatcaaaac	ctttgaagaa	cttttaccga	atgccacctc	catgtttgat	3720
	gactaccagg	gcgacagcag	cactctgttg	gcctctccca	tgctgaagcg	cttcacctgg	3780
	actgacagca	aacccaaggc	ctcgctcaag	attgacttga	gagtaaccag	taaaagtaag	3840
40	gagtcggggc	tgtctgatgt	cagcaggccc	agtttctgcc	attccagctg	tgggcacgct	3900
	agcgaaggca	agcgcagggt	cacctacgac	cacgctgagc	tggaaggaa	aatcgcgtgc	3960
	tgtccccgc	ccccagacta	caactcgggt	gtcctgtact	ccacccacc	catctag	4017
45	<210> 96						
	<211> 3897						
	<212> DNA						
	<213> Homo sapiens						
50	<300>						
	<302> Flt4						
	<310> XM003852						
	<400> 96						
55	atgcagcggg	gcgcccgcgt	gtgcctgcga	ctgtggctct	gcctgggact	cctggacggc	60
	ctggtgagtg	gctactccat	gaccccccg	acctgaaca	tcacggagga	gtcacacgtc	120
	atgcacaccg	gtgacagcct	gtccatctcc	tcagggggac	agcaccacct	cgagtgggct	180
	tggccaggag	ctcaggaggc	gccagccacc	ggagacaagg	acagcgagga	cacgggggtg	240
	gtgcgagact	gcgagggcac	agacgccagg	ccctactgca	aggtgttgct	gctgcacgag	300
60	gtacatgcca	acgacacagg	cagctacgtc	tgctactaca	agtaacatca	ggcacgcac	360
	gagggcacca	cggccgcccag	ctcctacgtg	ttcgtgagag	acttttagca	gccattcatc	420
	aacaagcctg	acacgctctt	ggtcaacagg	aaggacgcca	tgtgggtgcc	ctgtctggtg	480

	tccatccccg	gcctcaatgt	cacgctgcgc	tcgcaaagct	cggtgctgtg	gccagacggg	540
	caggaggttg	tgtgggatga	ccggcggggc	atgctcgtgt	ccacgccact	gctgcacgat	600
	gccctgtacc	tgcagtgcga	gaccacctgg	ggagaccagg	acttcctttc	caaccccttc	660
	ctggtgcaca	tcacaggcaa	cgagctctat	gacatccagc	tgttgcccag	gaagtgcgtg	720
5	gagctgctgg	taggggagaa	gctggtcctg	aactgcaccg	tgtgggctga	gtttaactca	780
	gggtgtcacct	ttgactggga	ctaccagggg	aagcaggcag	agcggggtaa	gtgggtgcc	840
	gagcgacgct	cccagcagac	ccacacagaa	ctctccagca	tcttgaccat	ccacaacgtc	900
	agccagcacg	acctgggctc	gtatgtgtgc	aaggccaaca	acggcatcca	gcgatttcgg	960
	gagagcaccg	aggtcattgt	gcatgaaaat	ccttctcatca	gcgtcgagtg	gctcaaagga	1020
10	cccacctctg	aggccacggc	aggagacgag	ctgggtgaagc	tgcccgtgaa	gctggcagcg	1080
	taccccccg	ccgagttcca	gtggtacaag	gatggaaagg	cactgtccgg	gcgccacagt	1140
	ccacatgccc	tgggtgctcaa	ggaggtgaca	gaggccagca	caggcaccta	caccctcgcc	1200
	ctgtggaact	ccgctgctgg	cctgaggcgc	aacatcagcc	tggagctggt	ggtgaatgtg	1260
	cccccccaga	tacatgagaa	ggaggcctcc	tccccagca	tctactcgcg	tcacagcccg	1320
15	caggccctca	cctgcacggc	ctacgggggtg	cccctgcctc	tcagcatcca	gtggcactgg	1380
	cgccctgga	cacctgcaa	gatgtttgcc	cagcgtagtc	tcggcgggcg	gcagcagcaa	1440
	gacctcatgc	cacagtgcgc	tgactggagg	gcggtgaccg	cgcaggatgc	cgtgaacccc	1500
	atcgagagcc	tggacacctg	gaccgagttt	gtggagggaa	agaataagac	tgtgagcaag	1560
	ctggtgatcc	agaatgccaa	cgtgtctgcc	atgtacaagt	gtgtggctctc	caacaaggtg	1620
20	ggccaggatg	agcggctcat	ctacttctat	gtgaccacca	tccccgacgg	cttcaccatc	1680
	gaatccaagc	catccgagga	gctactagag	ggccagccgg	tgtcctgag	ctgccaaagg	1740
	gacagctaca	agtacgagca	tctgcgctgg	taccgcctca	acctgtccac	gctgcacgat	1800
	gcgcacggga	accgccttct	gctcgactgc	aagaacgtgc	atctgttcgc	caccctctctg	1860
	gccgccagcc	tggaggaggt	ggcacctggg	gcgcgccacg	ccacgctcag	cctgagtatc	1920
25	ccccgcgtcg	cgcccgagca	cgagggccac	tatgtgtgcg	aagtgaaga	ccggcgcagc	1980
	catgacaagc	actgccacaa	gaagtacctg	tcggtgcagg	ccctggaagc	ccctcggtctc	2040
	acgcagaact	tgaccgacct	cctggtgaac	gtgagcgact	cgtggagat	gcagtgtctg	2100
	gtggccggag	cgcacgcgcc	cagcatcgtg	tgttacaag	acgagaggct	gctggaggaa	2160
	aagtctggag	tcgacttggc	ggactccaac	cagaagctga	gcatccagcg	cgtgcgcgag	2220
30	gaggatgcgg	gacgctatct	gtgcagcgtg	tgaacgcga	agggtgcgt	caactcctcc	2280
	gccagcgtgg	ccgtggaagg	ctccgaggat	aagggcagca	tggagatcgt	gatccttctc	2340
	ggtaccggcg	tcacgcgtgt	cttcttcttg	gtcctctcc	tcctcatctt	ctgtaacatg	2400
	aggaggccgg	cccacgcaga	catcaagacg	ggctacctgt	ccatcatcat	ggaccccg	2460
	gaggtgcctc	tggaggagca	atgcgaatac	ctgtcctacg	atgccagcca	gtgggaattc	2520
35	ccccgagagc	ggctgcacct	ggggagagtg	ctcggtacg	gcgccttcgg	gaaggtgggtg	2580
	gaagcctccg	ctttcggcct	ccacaagggc	agcagctgtg	acaccgtggc	cgtgaaaatg	2640
	ctgaaagagg	gcgccacggc	cagcgagcag	cgcgcgtga	tgtcggagct	caagatcctc	2700
	attcacatcg	gcaaccacct	caacgtggtc	aacctcctcg	ggcggtgcac	caagccgcag	2760
	ggccccctca	tgggtgatcgt	ggagttctgc	aagtacggca	acctctccaa	cttctgcgc	2820
40	gccaagcggg	acgccttcag	cccctgcgcg	gagaagtctc	ccgagcagcg	cggacgcttc	2880
	cgcgcctagg	tggagctcgc	caggctggat	cggaggcgcc	cggggagcag	cgacagggtc	2940
	ctcttcgcgc	ggttctcgaa	gaccgagggc	ggagcgaggc	gggcttctcc	agaccaagaa	3000
	gctgaggacc	tgtggctgag	cccgtgacc	atggaagatc	ttgtctgcta	cagcttccag	3060
	gtggccagag	ggatggagtt	cctggcttcc	cgaagtgca	tccacagaga	cctggctgct	3120
45	cggaacattc	tgtgtcgga	aagcgacgtg	gtgaagatct	gtgactttgg	ccttgcccgg	3180
	gacatctaca	aagaccccga	ctacgtccgc	aagggcagtg	ccgggtgcc	cctgaagtgg	3240
	atggcccctg	aaagcatctt	cgacaagggtg	tacaccacgc	agagtgcgt	gtggtccttt	3300
	gggggtgcttc	tctgggagat	cttctctctg	ggggcctccc	cgtaccctgg	ggtgcagatc	3360
	aatgaggagt	tctgccagcg	gctgagagac	ggcacaagga	tgagggcccc	ggagctggcc	3420
50	actcccgcca	tacgccgcat	catgctgaac	tgtgtgtccg	gagaccccaa	ggcgagacct	3480
	gcattctcgg	agctgggtga	gatcctgggg	gactctgtcc	agggcagggg	cctgcaagag	3540
	gaagaggagg	tctgcatggc	cccgcgcagc	tctcagagct	cagaagaggg	cagcttctcg	3600
	caggtgtcca	ccatggccct	acacatcgcc	caggctgacg	ctgaggacag	cccgccaaagc	3660
	ctgcagcgcc	acagcctggc	cgccaggtat	tacactggg	tgtcctttcc	cgggtgcctg	3720
55	gccagagggg	ctgagacccg	tggttcctcc	aggatgaaga	catttgagga	attccccatg	3780
	accccaacga	cctacaaagg	ctctgtggac	aaccagacag	acagtgggat	ggtgctggcc	3840
	tcggaggaggt	ttgagcagat	agagagcagg	catagacaag	aaagcggctt	caggtag	3897

60 <210> 97
 <211> 4071
 <212> DNA

<213> Homo sapiens

<300>

<302> KDR

5 <310> AF063658

<400> 97

	atggagagca	agggtgctgct	ggccgctcgcc	ctgtggctct	gcgtggagac	ccgggccgcc	60
	tctgtgggtt	tgcctagtgt	ttctcttgat	ctgcccaggc	tcagcataca	aaaagacata	120
10	cttacaatta	aggctaatac	aactcttcaa	attacttgca	ggggacagag	ggacttggac	180
	tggctttggc	ccaataatca	gagtggcagt	gagcaaaggg	tggaggtgac	tgagtgcagc	240
	gatggcctct	tctgtaagac	actcacaatt	ccaaaagtga	tcggaaatga	cactggagcc	300
	tacaagtgtc	tctaccggga	aactgacttg	gcctcgggtca	tttatgtcta	tgttcaagat	360
	tacagatctc	catttattgc	ttctgttagt	gaccaacatg	gagtcgtgta	cattactgag	420
15	aacaaaaaca	aaactgtggt	gattccatgt	ctcgggtcca	tttcaaatct	caacgtgtca	480
	ctttgtgcaa	gatacccaga	aaagagattt	gttcctgatg	gtaacagaat	ttcctgggac	540
	agcaagaagg	gctttactat	tcccagctac	atgatcagct	atgctggcat	ggctctctgt	600
	gaagcaaaaa	ttaatgatga	aagttaccag	tctattatgt	acatagttgt	cgttgtaggg	660
	tataggattt	atgatgtggt	tctgagtcgc	tctcatggaa	ttgaactatc	tgttgagaaa	720
20	aagcttgtct	taaattgtac	agcaagaact	gaactaaatg	tggggattga	cttcaactgg	780
	gaataccctt	cttcgaagca	tcagcataag	aaacttgtaa	accgagacct	aaaaaccag	840
	tctgggagtg	agatgaagaa	atttttgagc	accttaacta	tagatggtgt	aaccggagt	900
	gaccaaggat	tgtacacctg	tgcagcatcc	agtgggctga	tgaccaagaa	gaacagcaca	960
	tttgtcaggg	tccatgaaaa	accttttggt	gcttttgtaa	gtggcatgga	atctctggtg	1020
25	gaagccacgg	tggggggagcg	tgtcagaatc	cctgcgaagt	accttggtta	cccaccccca	1080
	gaaataaaat	ggtataaaaa	tggaaatacc	cttgagtcca	atcacacaat	taaagcgggg	1140
	catgtactga	cgattatgga	agtgagtga	agagacacag	gaaattacac	tgtcatcctt	1200
	accaatccca	tttcaaagga	gaagcagagc	catgtggtct	ctctggttgt	gtatgtccca	1260
	cccagattg	gtgagaaatc	tctaactctc	cctgtggatt	cctaccagta	cggcaccact	1320
30	caaacgctga	catgtacggg	ctatgccatt	cctccccgc	atcacatcca	ctggtattgg	1380
	cagttggagg	aagagtgcgc	caacgagccc	agccaagctg	tctcagtgc	aaaccatac	1440
	ccttgtgaag	aatggagaag	tgtggaggac	ttccagggag	gaaataaaat	tgaagttaat	1500
	aaaaatcaat	ttgctcta	tgaaggaaaa	aacaaaactg	taagtaccct	tgttatccaa	1560
	gcggcaaatg	tgtcagcttt	gtacaaatgt	gaagcggta	acaaagtcgg	gagaggagag	1620
35	agggtgatct	ccttccacgt	gaccaggggt	cctgaaatta	ctttgcaacc	tgacatgcag	1680
	cccactgagc	aggagagcgt	gtcctttgtg	tgcactgcag	acagatctac	gtttgagaac	1740
	ctcacatggg	acaagcttgg	cccacagcct	ctgccaatcc	atgtgggaga	gttgcccaca	1800
	cctgtttgca	agaacttgga	tactctttgg	aaattgaatg	ccaccatggt	ctctaatagc	1860
	acaaatgaca	ttttgatcat	ggagcttaag	aatgcatcct	tgcaggacca	aggagactat	1920
40	gtctgccttg	ctcaagacag	gaagaccaag	aaaagacatt	gcgtggtcag	gcagctcaca	1980
	gtcctagagc	gtgtggcacc	cacgatcaca	ggaacacctg	agaatcagac	gacaagtatt	2040
	ggggaaagca	tcgaagtctc	atgcacggca	tctgggaatc	cccctccaca	gatcatgtgg	2100
	tttaaagata	atgagaccct	tgtagaagac	tcaggcattg	tattgaagga	tgggaaccgg	2160
	aacctcacta	tccgcagagt	gaggaaggag	gacgaaggcc	tctacacctg	ccaggcatgc	2220
45	agtgttcttg	gctgtgcaaa	agtggaggca	tttttcataa	tagaaggtgc	ccaggaaaag	2280
	acgaacttgg	aaatcattat	tctagttagc	acggcgggtga	ttgccatgtt	cttctggcta	2340
	cttcttgtca	tcactctacg	gaccgttaag	cgggccaatg	gaggggaact	gaagacaggc	2400
	tactttgtcca	tcgtcatgga	tccagatgaa	ctcccatgg	atgaacattg	tgaacgactg	2460
	ccttatgatg	ccagcaaatg	ggaattcccc	agagaccggc	tgaagctagg	taagcctctt	2520
50	ggccgtgggtg	cctttggcca	agtgattgaa	gcagatgcct	ttggaattga	caagacagca	2580
	acttgacagga	cagttagcagt	caaaatgttg	aaagaaggag	caacacacag	tgagcatcga	2640
	gctctcatgt	ctgaactcaa	gatcctcatt	catattgggtc	accatctcaa	tgtgggtcaa	2700
	cttctagggtg	cctgtaccaa	gccaggaggg	ccactcatgg	tgattgtgga	attctgcaaa	2760
	tttggaacc	tgtccactta	cctgaggagc	aagagaaatg	aatttgtccc	ctacaagacc	2820
55	aaagggggcac	gattccgtca	agggaaaagac	tacgttggag	caatccctgt	ggatctgaaa	2880
	cggcgcttgg	acagcatcac	cagttagccag	agctcagcca	gctctggatt	tgtggaggag	2940
	aagtccctca	gtgatgtaga	agaagaggaa	gctcctgaag	atctgtataa	ggacttctgt	3000
	accttgagagc	atctcatctg	ttacagcttc	caagtggcta	agggcatgga	gttcttgcca	3060
	tcgcgaaagt	gtatccacag	ggacctggcg	gcacgaaata	tcctcttatc	ggagaagaac	3120
60	gtgggttaaaa	tctgtgactt	tggcttggcc	cgggatattt	ataaagatcc	agattatgtc	3180
	agaaaaggag	atgctcgctt	ccctttgaaa	tggatggccc	cagaaacaat	ttttgacaga	3240
	gtgtacacaa	tccagagtga	cgtctggtct	tttggtgttt	tgctgtggga	aatattttcc	3300

```

5      ttaggtgctt ctccatatcc tggggtaaa attgatgaag aattttgtag gcgattgaaa 3360
      gaaggaacta gaatgagggc ccttgattat actacaccag aaatgtacca gaccatgctg 3420
      gactgctggc acggggagcc cagtcagaga cccacgtttt cagagttggt ggaacatttg 3480
      ggaaatctct tgcaagctaa tgctcagcag gatggcaaag actacattgt tcttccgata 3540
      tcagagactt tgagcatgga agaggattct ggactctctc tgcctacctc acctgtttcc 3600
      tgtatggagg aggaggaagt atgtgacccc aaattccatt atgacaacac agcaggaatc 3660
      agtcagtatc tgcagaacag taagcgaaag agccggcctg tgagtgtaaa aacatttgaa 3720
      gatatcccgt tagaagaacc agaagtaaaa gtaatcccag atgacaacca gacggacagt 3780
      ggtatggttc ttgcctcaga agagctgaaa actttggaag acagaaccaa attatctcca 3840
10     tcttttggtg gaatggtgcc cagcaaaagc agggagtctg tggcatctga aggctcaaac 3900
      cagacaagcg gctaccagtc cggatatcac tccgatgaca cagacaccac cgtgtactcc 3960
      agtgaggaag cagaactttt aaagctgata gagattggag tgcaaaccgg tagcacagcc 4020
      cagattctcc agcctgactc ggggaccaca ctgagctctc ctctgttta a 4071

15     <210> 98
      <211> 1410
      <212> DNA
      <213> Homo sapiens

20     <300>
      <302> MMP1
      <310> M13509

25     <400> 98
      atgcacagct ttcctccact gctgctgctg ctgttctggg gtgtgggtgtc tcacagcttc 60
      ccagcgactc tagaaacaca agagcaagat gtggacttag tccagaaata cctggaaaaa 120
      tactacaacc tgaagaatga tgggaggcaa gttgaaaagc ggagaaatag tggcccagtg 180
      gttgaaaaat tgaagcaaat gcaggaattc tttgggctga aagtgactgg gaaaccagat 240
30     gctgaaaccc tgaagggtgat gaagcagccc agatgtggag tgctctgatgt ggctcagttt 300
      gtccctcactg agggaaaccc tcgctgggag caaacacatc tgagggtacag gattgaaaaa 360
      tacacgccag atttgccaag agcagatgtg gaccatgcca ttgagaaagc cttccaactc 420
      tggagtaatg tcacacctct gacattcacc aaggtctctg aggggtcaagc agacatcatg 480
      atatcttttg tcagggggaga tcatcgggac aactctcctt ttgatggacc tggaggaaat 540
35     cttgctcatg cttttcaacc aggccaggtt attggagggg atgctcattt tgatgaagat 600
      gaaaggtgga ccaacaattt cagagagtag aacttacatc gtgttgccgc tcatgaactc 660
      ggccattctc ttggactctc ccattctact gatatcgggg ctttgatgta ccctagctac 720
      accttcagtg gtgatgttca gctagctcag gatgacattg atggcatcca agccatata 780
      ggacgttccc aaaatcctgt ccagcccacg ggcccacaaa ccccaaaagc gtgtgacagt 840
40     aagctaacct ttgatgctat aactacgatt cggggagaag tgatgttctt taaagacaga 900
      ttctacatgc gcacaaatcc cttctacccg gaagttgagc tcaatttcat ttctgttttc 960
      tggccacaac tgccaaatgg gcttgaagct gcttgaagct ttgccgacag agatgaagtc 1020
      cgggtttttca aaggggaataa gtactgggct gttcagggac agaattgtgt acacggatac 1080
      cccaaggaca tctacagctc ctttggtctt cctagaactg tgaagcatat cgatgctgct 1140
45     ctttctgagg aaaacactgg aaaaacctac ttctttgttg ctaacaaata ctggagggtat 1200
      gatgaatata aacgatctat ggatccaagt tatcccaaaa tgatagcaca tgactttcct 1260
      ggaattggcc acaaagttag tgagtttttc atgaaagatg gatttttcta tttctttcat 1320
      ggaacaagac aatacaaat tgcctctaaa acgaagagaa ttttgactct ccagaaagct 1380
      aatagctggt tcaactgcag gaaaaattga 1410

50     <210> 99
      <211> 1743
      <212> DNA
      <213> Homo sapiens

55     <300>
      <302> MMP10
      <310> XM006269

60     <400> 99
      aaagaaggta agggcagtg gaatgatgca tcttgcatte cttgtgctgt tgtgtctgcc 60

```

agtctgctct gcctatcctc tgagtggggc agcaaaagag gaggactcca acaaggatct 120
 tgcccagcaa tacctagaaa agtactacaa cctcgaaaag gatgtgaaac agtttagaag 180
 aaaggacagt aatctcattg ttaaaaaaat ccaaggaatg cagaagttcc ttgggttgga 240
 5 ggtgacaggg aagctagaca ctgacactct ggaggtgatg cgcaagccca ggtgtggagt 300
 tccgtgacgtt ggtcacttca gctcctttcc tggcatgccg aagtggagga aaaccaccc 360
 tacatacagg attgtgaatt atacaccaga tttgccaaga gatgctgttg attctgccat 420
 tgagaaagct ctgaaagtct gggaaagagt gactccactc acattctcca ggctgtatga 480
 aggagaggct gatataatga tctcttttgc agttaaagaa catggagact tttactcttt 540
 10 tgatggccca ggacacagtt tggctcatgc ctaccaccc 600
 tattcaccttt gatgatgatg aaaaatggac agaagatgca tcaggcacca atttatccct 660
 cgttgctgct catgaacttg gccactccct ggggctcttt cactcagcca acactgaagc 720
 tttgatgtac ccactctaca actcattcac agagctcgcc cagttccgcc tttcgcaaga 780
 tgatgtgaat ggcattcagt ctctctacgg acctccccct gcctctactg aggaacccct 840
 15 ggtgcccaca aaatctgttc cttcgggatac tgagatgccca gccaaagtgtg atcctgcttt 900
 gtcccttcgat gccatcagca ctctgagggg agaatatctg ttctttaaag acagatatatt 960
 ttggcgcaaga tcccactgga accctgaacc tgaatttcoat ttgatttctg cattttggcc 1020
 ctctcttcca tcatatttgg atgctgcata tgaagttaac agcagggaca ccgtttttat 1080
 ttttaaagga aatgagttct gggccatcag aggaaatgag gtacaagcag gttatccaag 1140
 20 aggcattccat accctgggtt ttctctcaac cataaggaaa attgatgcag ctgtttctga 1200
 caagggaaaag aagaaaacat acttctttgc agcggacaaa tactggagat ttgatgaaaa 1260
 tagccagtcac atggagcaag gcttccctag actaatagct gatgactttc caggagtga 1320
 gcctaagggtt gatgctgtat tacaggcatt tggatttttc tacttcttca gtggatcatc 1380
 acagtttgag tttgaccca atgccaggat ggtgacacac atattaaaga gtaacagctg 1440
 25 gttacattgc taggcgagat agggggaaga cagatatggg tgttttaaat aaatctaata 1500
 attattcatc taatgtatta tgagccaaaa tggttaattt ttcttgcag ttctgtgact 1560
 gaagaagatg agccttgacg atatctgcag gtgtcatgaa gaatgtttct ggaattcttc 1620
 acttgctttt gaattgcact gaacagaatt aagaaatact catgtgcaat aggtgagaga 1680
 atgtattttc atagatgtgt tattacttcc tcaataaaaa gttttatttt gggcctgttc 1740
 30 ctt 1743

<210> 100
 <211> 1467
 <212> DNA
 35 <213> Homo sapiens

<300>
 <302> MMP11
 <310> XM009873

40 <400> 100
 atggctccgg cgcctggct cgcagcggc gccgcgcgcg cctcctgcc cccgatgctg 60
 ctgctgctgc tccagccgcc gccgtgctg gccggggctc tgccgcggga cggccaccac 120
 45 ctccatgccg agaggagggg gccacagccc tggcatgcag ccctgccag tagcccggca 180
 cctgcccctg ccacgcagga agcccccg cctgccagca gcctcaggcc tccccgctgt 240
 ggcgtgcccg acccatctga tgggctgagt gcccgcaacc gacagaagag gttcgtgctt 300
 tctggcgggc gctgggagaa gacggacctc acctacagga tccttcgggt cccatggcag 360
 ttggtgcagg agcaggtgcg gcagacgat gcagaggccc taaaggtatg gagcgaatgt 420
 50 acgccactca cctttactga ggtgcacgag ggcctgctg acatcatgat cgacttcgcc 480
 aggtactggc atggggacga cctgccgttt gatgggcctg ggggcaccc 540
 ttcttcccc aacctaccg agaaggggat gtccacttcg actatgatga gacctggact 600
 atcggggatg accagggcac agacctgctg caggtggcag cccatgaatt tggccacgtg 660
 ctggggctgc agcacacaac agcagccaag gccctgatgt ccgccttcta cacttttcgc 720
 taccactga gtctcagccc agatgactgc aggggcgttc aacacctata tggccagccc 780
 55 tggcccactg tcacctccag gacccagccc ctgggcccc aggttgggat agacaccaat 840
 gagattgcac cgtggagcc agacgcccc ccagatgcct gtgaggcctc ctttgacgcg 900
 gtctccacca tccgaggcga gctctttttc ttcaaagcgg gctttgtgtg gcgcctccgt 960
 gggggccagc tgcagcccgg ctaccagca ttggcctctc gccactggca gggactgcc 1020
 agccctgtgg acgtgcctt cgaggatgcc cagggccaca tttggttctt ccaaggtgct 1080
 60 cagtactggg tgtacgacgg tgaaaagcca gtcctgggccc ccgcaccct caccgagctg 1140
 ggctgggtga ggttcccggt ccatgtgccc ttggtctggg gtcccagaa gaacaagatc 1200
 tacttcttcc gaggcaggga ctactggcgt ttccaccca gcaccggcg tgtagacagt 1260

cccgtgcccc gcagggccac tgactggaga ggggtgccct ctgagatcga cgctgccttc 1320
 caggatgctg atggctatgc ctacttcctg cgcgcccgcc tctactggaa gtttgaccct 1380
 gtgaaggtga aggctctgga aggcttcccc cgtctcgtgg gtccctgactt ctttggtgtg 1440
 gccgagcctg ccaacacttt cctctga 1467

5

<210> 101

<211> 1653

<212> DNA

10 <213> Homo sapiens

<300>

<302> MMP12

<310> XM006272

15

<400> 101

atgaagtctt ttctaatact gctcctgcag gccactgctt ctggagctct tcccctgaac 60
 agctctacaa gcctggaaaa aaataatgtg ctatttggtg agagatactt agaaaaattt 120
 tatggccttg agataaaciaa acttccagtg acaaaaatga aatatagtgg aaacttaatg 180
 20 aaggaaaaaa tccaagaaat gcagcacttc ttgggtctga aagtgaccgg gcaactggac 240
 acatctaccc tggagatgat gcacgcacct cgatgtggag tccccgatgt ccatcatttc 300
 agggaaatgc cagggggggc cgtatggagg aaacattata tcacctacag aatcaataat 360
 tacacacctg acatgaaccg tgaggatggt gactacgcaa tccggaaagc tttccaagta 420
 tggagtaatg ttacccccct gaaattcagc aagattaaca caggcatggc tgacattttg 480
 25 gtgggttttg cccgtggagc tcatggagac ttccatgctt ttgatggcaa aggtggaatc 540
 ctagcccatg cttttggacc tggatctggc attggagggg atgcacattt cgatgaggac 600
 gaattctgga ctacacattc aggagnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 660
 nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 720
 nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 780
 30 nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 840
 nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 900
 nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnngagag gatccaaagg ccgtaatggt cccacacctac 960
 aaatatgttg acatcaacac atttcgcctc tctgctgatg acatacgtgg cattcagtc 1020
 ctgtatggag acccaaaaaga gaaccaacgc ttgccaaatc ctgacaattc agraccagct 1080
 35 ctctgtgacc ccaatttgag ttttgatgct gtcactaccg tgggaaataa gatctttttc 1140
 ttcaaagaca gggtcttctg gctgaagggt tctgagagac caaagaccag tgttaattta 1200
 atttcttctc tatggccaac cttgccatct ggcatggaag ctgcttatga aattgaagcc 1260
 agaaatcaag tttttctttt taaagatgac aaatactggt taattagcaa ttttaagacca 1320
 gagccaaatt atcccaagag catacattct tttggttttc ctaactttgt gaaaaaaatt 1380
 40 gatgcagctg tttttaaccc acgtttttat aggacctact tctttgtaga taaccagtat 1440
 tggaggctat atgaaaggag acagatgatg gacctgggt atcccaaact gattaccaag 1500
 aacttccaag gaatcggggc taaaattgat gcagtcttct actctaaaaa caaatactac 1560
 tatttcttcc aaggatctaa ccaatttgaa tatgacttcc tactccaacg tatcaccaaa 1620
 45 acactgaaaa gcaatagctg gtttggttgt tag 1653

<210> 102

<211> 1416

<212> DNA

50 <213> Homo sapiens

<400> 102

atgcattccag gggctcctggc tgccttcctc ttcttgagct ggactcattg tccggccctg 60
 cccttcccca gtgggtgggtga tgaagatgat ttgtctgagg aagacctcca gtttgagag 120
 55 cgctacctga gatcatacta ccattcctaca aatctcgagg gaatcctgaa ggagaatgca 180
 gcaagctcca tgactgagag gctccgagaa atgcagtctt tcttcggctt agagggtgact 240
 ggcaaaacttg acgataacac cttagatgtc atgaaaaagc caagatgcgg gggtcctgat 300
 gtgggtgaat acaatgtttt ccctcgaaact cttaaattggt ccaaaaatgaa ttttaacctac 360
 agaattgtga attacacccc tgatatgact cattctgaag tcgaaaaaggc attcaaaaaa 420
 60 gccttcaaag tttgggtccga tgtaactcct ctgaatttta ccagacttca cgatggcatt 480
 gctgacatca tgatctcttt tggaattaa gacatggcg acttctaccc atttgatggg 540
 cctctctggcc tgctggctca tgcttttctt cctgggcca attatggagg agatgccccat 600

```

    tttgatgatg atgaaacctg gacaagtagt tccaaaggct acaacttggt tcttggtgct 660
    gcgcatgagt tcggccactc cttaggtctt gaccactcca aggaccctgg agcactcatg 720
    tttcctatct acacctacac cggcaaaagc cactttatgc ttcctgatga cgatgtacaa 780
    gggatccagt ctctctatgg tccaggagat gaagacccca accctaaaca tccaaaaacg 840
5    ccagacaaat gtgacccttc cttatccctt gatgccatta ccagtctccg aggagaaaca 900
    atgatcttta aagacagatt cttctggcgc ctgcatcctc agcagggtga tgcggagctg 960
    tttttaacga aatcattttg gccagaactt cccaaccgta ttgatgctgc atatgagcac 1020
    ccttctcatg acctcatctt catcttcaga ggtagaaaat tttgggctct taatgggttat 1080
    gacattctgg aaggttatcc caaaaaata tctgaactgg gtcttccaaa agaagttaag 1140
10    aagataagtg cagctgttca ctttgaggat acaggcaaga ctctcctggt ctcaggaaac 1200
    caggtctgga gatatgatga tactaaccat attatggata aagactatcc gagactaata 1260
    gaagaagact tcccaggaat tgggtataaa gtagatgctg tctatgagaa aaatgggttat 1320
    atctattttt tcaacggacc catacagttt gaatacagca tctggagtaa ccgtattggt 1380
    cgcgtcatgc cagcaaattc cattttgtgg tgttaa 1416
15

    <210> 103
    <211> 1749
    <212> DNA
20    <213> Homo sapiens

    <300>
    <302> MMP14
    <310> NM004995
25

    <400> 103
    atgtctcccg ccccaagacc cccccgttgt ctctgtctcc ccctgctcac gctcggcacc 60
    gcgctcgctt ccctcggttc ggcccaaagc agcagcttca gccccgaagc ctggctacag 120
    caatatgggt acctgcctcc cggggacctc cgtaccacac cacagcgctc accccagtca 180
30    ctctcagcgg ccctcgtctg catgcagaag ttttacggct tgcaagtaac aggcaaagct 240
    gatgcagaca ccatgaaggc catgaggcgc ccccgatgtg gtgttccaga caagtttggg 300
    gctgagatca aggccaatgt tcgaaggaaag cgctacgcca tccagggtct caaatggcaa 360
    cataatgaaa tcactttctg catccagaat tacaccccca aggtgggcga gtatgccaca 420
    tacgaggcca ttcgcaaggc gttccgcgtg tgggagagtg ccacaccact gcgcttccgc 480
35    gaggtgccct atgcctacat ccgtgagggc catgagaagc aggccgacat catgatcttc 540
    tttgccgagg gcttccatgg cgacagcacg cccttcgatg gtgaggcgcg ctctcctggc 600
    catgcctact tcccaggccc caacattgga ggagacaccc actttgactc tgccgagcct 660
    tggactgtca ggaatgagga tctgaatgga aatgacatct tcttggtggc tgtgcacgag 720
    ctggggccatg ccctggggct cgagcattcc agtgaccctt cggccatcat ggcacccttt 780
40    taccagtgga tggacacgga gaattttgtg ctgcccgatg atgaccgccg gggcatccag 840
    caactttatg ggggtgagtc agggttcccc accaagatgc ccctcaacc caggactacc 900
    tcccggcctt ctgttcttga taaacccaaa aacccacct atgggcccac catctgtgac 960
    gggaaactttg acaccgtggc catgctccga ggggagatgt ttgtcttcaa ggagcgctgg 1020
    ttcttgccgg tgaggaataa ccaagtgtg gatggatacc caatgcccat tggccagttc 1080
45    tggcggggcc tgctgcgtc catcaacact gcctacgaga ggaaggatgg caaatctgtc 1140
    ttcttcaaag gagacaagca ttgggtgttt gatgaggcgt ccctggaacc tggctacccc 1200
    aagcacatta aggagctggg ccgagggtcg cctaccgaca agattgatgc tgctctcttc 1260
    tggatgcccc atggaaagac ctacttcttc cgtggaaaca agtactaccg tttcaacgaa 1320
    gagctcaggg cagtggatag cgagtacccc aagaacatca agtctggga agggatccct 1380
50    gagtctccca gagggtcatt catgggcagc gatgaagtct tcacttactt ctacaagggg 1440
    aacaatactt ggaattcaa caaccagaag ctgaaggtag aaccgggcta cccaagta 1500
    gccctgaggg atggatggg ctgccatcg ggaggccggc cgatgaggg gactgaggag 1560
    gagacggagg tgatcatcat tgaggtggac gaggagggcg gggggcggt gagcgcggt 1620
    gccgtgtgtc tgcccggtc gctgctgtc ctggtgctgg cgggtgggct tgcatgttc 1680
55    ttcttcagac gccatgggac cccagggcga ctgctctact gccagcggtc cctgctggac 1740
    aaggtctga 1749

    <210> 104
60    <211> 2010
    <212> DNA
    <213> Homo sapiens

```

<300>
 <302> MMP15
 <310> NM002428

5

<400> 104

atgggcagcg	acccgagcgc	gcccggacgg	cggggctgga	cgggcagcct	cctcggcgac	60
cgggaggagg	cggcgcgggc	gcgactgctg	ccgctgctcc	tgggtgcttct	gggctgcctg	120
ggccttggcg	tagcggccga	agacgcggag	gtccatgccg	agaactggct	gcggctttat	180
10 ggctacctgc	ctcagcccag	ccgccatatg	tccaccatgc	gttccgccc	gatcttggcc	240
tcggcccttg	cagagatgca	gcgcttctac	gggatcccag	tcaccgggtg	gctcgacgaa	300
gagaccaagg	agtggatgaa	gcgccccgc	tgtggggtgc	cagaccagtt	cggggtagca	360
gtgaaagcca	acctgcggcg	gcgtcggaag	cgctacgcc	tcaccgggag	gaagtggaa	420
aaccaccatc	tgacctttag	catccagaac	tacacggaga	agttgggctg	gtaccactcg	480
15 atggaggcgg	tgcgaggggc	cttccgcgtg	tgggagcagg	ccacgcccct	gggtcttccag	540
gaggtgcccct	atgaggacat	ccggctgcgg	cgacagaagg	aggccgacat	catgggtactc	600
tttgccctctg	gcttccacgg	cgacagctcg	ccgtttgatg	gcaccgggtg	ctttctggcc	660
cacgcctatt	tccctggccc	cggcctaggc	ggggacacc	atthtgacgc	agatgagccc	720
tggaaccttct	ccagcactga	cctgcatgga	aacaacctct	tcctggtggc	agtgcagtag	780
20 ctggggccacg	cgctgggggt	ggagcactcc	agcaacccca	atgccatcat	ggcgccgttc	840
taccagtggga	aggacgttga	caacttcaag	ctgcccgagg	acgatctccg	tggcatccag	900
cagctctacg	gtaccccaga	cggtcagcca	cagcctaccc	agcctctccc	cactgtgacg	960
ccacggcgggc	caggccggcc	tgaccaccgg	ccgcccggc	ctccccagcc	accaccccca	1020
ggtggggaagc	cagagcggcc	cccaaagccg	ggccccccag	tccagccccg	agccacagag	1080
25 cggcccgacc	agtatggccc	caacatctgc	gacggggact	ttgacacagt	ggccatgctt	1140
cgcggggaga	tgttcgtggt	caagggcgc	tggttctggc	gagtcgggca	caaccgcgtc	1200
ctggacaact	atcccatgcc	catcgggcac	ttctggcggtg	gtctgcccgg	tgacatcagt	1260
gctgcctacg	agcgccaaga	cggtcgtttt	gtctttttca	aaggtgaccg	ctactggctc	1320
tttcgagaag	cgaacctgga	gcccgcctac	ccacagccgc	tgaccagcta	tggcctgggc	1380
30 atccccctatg	accgcattga	cacggccatc	tgggtgggagc	ccacaggcca	caccttcttc	1440
ttccaagagg	acaggtactg	gcgcttcaac	gaggagacac	agcgtggaga	ccctgggtac	1500
cccaagccca	tcagtgtctg	gcaggggatc	cctgcctccc	ctaaaaggggc	cttccctgagc	1560
aatgacgcag	cctacacct	cttctacaag	ggcaccaaat	actggaaatt	cgacaatgag	1620
cgcttgcgga	tggagcccg	ctaccccaag	tccatcctgc	gggacttcat	gggctgccag	1680
35 gagcacgtgg	agccaggccc	ccgatggccc	gacgtggccc	ggccgcccct	caacccccac	1740
gggggtgcag	agcccggggc	ggacagcgca	gagggcgacg	tgggggatgg	ggatggggac	1800
tttggggccg	gggtcaacaa	ggacgggggc	agccgcgtgg	tgggtgcagat	ggaggggtg	1860
gcacggacgg	tgaacgtggt	gatggtgctg	gtgccactgc	tgctgctgct	ctgcgtcctg	1920
ggcctcacct	acgcgctggt	gcagatgcag	cgcaagggtg	cgccacgtgt	cctgctttac	1980
40 tgcaagcgct	cgctgcagga	gtgggtctga				2010

<210> 105
 <211> 1824
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

45

<300>
 <302> MMP16
 <310> NM005941

50

<400> 105

atgatcttac	tcacattcag	cactggaaga	cggttggatt	tcgtgcatca	ttcgggggtg	60
tttttcttgc	aaaccttgct	ttggatttta	tgtgctacag	tctgcggaac	ggagcagtat	120
55 ttcaatgtgg	aggtttgggt	acaaaagtac	ggctaccttc	caccgactga	ccccagaatg	180
tcagtgtctg	gctctgcaga	gacctgcag	tctgccctag	ctgccatgca	gcagttctat	240
ggcattaaca	tgacaggaaa	agtggacaga	aacacaattg	actggatgaa	gaagccccga	300
tgcggtgtac	ctgaccagac	aagaggtagc	tccaaatttc	atattcgctg	aaagcgatat	360
gcattgacag	gacagaaatg	gcagcacaag	cacatcactt	acagtataaa	gaacgtaact	420
60 ccaaaagtag	gagaccctga	gactcgtaaa	gctattcgcc	gtgcctttga	tgtgtggcag	480
aatgtaaactc	ctctgacatt	tgaagaagtt	ccctacagtg	aattagaaaa	tggcaaacgt	540
gatgtggata	taaccattat	ttttgcatct	ggttttccatg	gggacagctc	tccctttgat	600

```

5  ggagagggag gatttttggc acatgcctac ttccttggac caggaatttg aggagatacc 660
   cattttgact cagatgagcc atggacacta ggaaatccta atcatgatgg aaatgactta 720
   tttctttagt cagtccatga actgggacat gctctgggat tggagcattc caatgacccc 780
   actgccatca tggctccatt ttaccagtac atggaaacag acaacttcaa actacctaata 840
   gatgattttac agggcatcca gaaaatatat ggtccacctg acaagattcc tccacctaca 900
   agacctctac cgacagtgcc cccacaccgc tctattcctc cggctgaccc aaggaaaaat 960
   gacaggccaa aacctcctcg gcctccaacc ggcagaccct cctatcccgg agccaaaccc 1020
   aacatctgtg atgggaactt taacactcta gctattcttc gtcgtgagat gtttgttttc 1080
   aaggaccagt ggttttggcg agtgagaaac aacagggtga tggatggata cccaatgcaa 1140
10  attacttact tctggcgggg cttgcctcct agtatcgatg cagtttatga aaatagcgac 1200
   gggaattttg tgttctttaa aggttaacaaa tattgggtgt tcaaggatac aactcttcaa 1260
   cctggttacc ctcatgactt gataaccctt ggaagtggaa ttccccctca tggatttgat 1320
   tcagccattht ggtgggagga cgtcgggaaa acctatttct tcaagggaga cagatattgg 1380
   agatatagtg aagaaatgaa aacaatggac cctggctatc ccaagccaat cacagtctgg 1440
15  aaagggatcc ctgaatctcc tcagggagca tttgtacaca aagaaaatgg ctttacgtat 1500
   ttctacaaag gaaaggagta ttggaaattc aacaaccaga tactcaaggt agaacctgga 1560
   catccaagat ccatacctcaa ggattttatg ggtgtgatg gaccaacaga cagagttaaa 1620
   gaaggacaca gccaccaga tgatgtagac attgtcatca aactggacaa cacagccagc 1680
   actgtgaaag ccatagctat tgctattccc tgcattcttg ccttatgcct ccttgtattg 1740
20  gtttacactg tgttccagtt caagagggaa ggaacacccc gccacatact gtactgtaaa 1800
   cgctctatgc aagagtgggt gtga 1824

```

```

25  <210> 106
     <211> 1560
     <212> DNA
     <213> Homo sapiens

```

```

30  <300>
     <302> MMP17
     <310> NM004141

```

```

35  <400> 106
   atgcagcagt ttggtggcct ggaggccacc ggcatcctgg acgaggccac cctggccctg 60
   atgaaaaccc cagctgtctc cctgccagac ctccctgtcc tgaccaggcc tcgcaggaga 120
   cgccaggctc cagcccccac caagtggaaac aagaggaacc tgtcgtggag ggtccggacg 180
   ttcccacggg actcaccact ggggcacgac acggtgctgt cactcatgta ctacgccctc 240
   aaggctctgga gcgacattgc gcccctgaac ttccacgagg tggcgggcag caccgccgac 300
   atccagatcg acttctccaa ggccgacccat aacgacggct accctctcga cggccccggc 360
40  ggcaccgtgg cccacgcctt ctccccggc caccaccaca ccgccgggga caccacttt 420
   gacgatgacg aggcctggac ctccgcctcc tcggatgccc acgggatgga cctgtttgca 480
   gtggctgtcc acgagtttgg ccacgcccatt gggttaagcc atgtggccgc tgcacactcc 540
   atcatgctggc cgtactacca gggcccgggtg ggtgacccgc tgcgctacgg gctcccctac 600
   gaggacaagg tgcgcgtctg gcagctgtac ggtgtgctgg agtctgtgtc tcccacggcg 660
45  cagcccagag agcctccctt gctgccggag ccccagaca accggtccag cgccccggcc 720
   aggaaggacg tgccccacag atgcagcact cactttgacg cgttgggcca gatccggggt 780
   gaagctttct tcttcaaagg caagtacttc tggcggctga cgcgggaccg gcacctggtg 840
   tccctgcagc cggcacagat gcaccgcttc tggcggggcc tgcgctgca cctggacagc 900
   gtggacgcgc tgtacgagcg caccagcgac cacaagatcg tcttctttaa aggagacagg 960
50  tactgggtgt tcaaggacaa taacgtagag gaaggatacc cgcgccccgt ctccgacttc 1020
   agcctcccgc ctggcggcat cgacgctgcc ttctcctggg ccacaaatga caggacttat 1080
   ttctttaagg accagctgta ctggcgctac gatgaccaca cgaggcacat ggacccggc 1140
   taccgccccc agagccccct gtggaggggt gtccccagca cgctggacga cgccatgcgc 1200
   tggtcgcagc gtgcctccta cttcttccgt ggccaggagt actggaaagt gctggatggc 1260
55  gagctggagg tggcaccggt gtaccacag tccacggccc gggactggct ggtgtgtgga 1320
   gactcacagg ccgatggatc tgtggctgcg ggcgtggacg cggcagaggg gccccgcgc 1380
   cctccaggac aacatgacca gagcggctcg gaggacgggt acgaggtctg ctcatgcacc 1440
   tctggggcat cctctcccc gggggcccca ggccactgg tggctgccac catgctgtc 1500
60  ctgctgccgc cactgtcacc aggcgcctg tggacagcgg ccagggccct gacgctatga 1560

```

```

<210> 107

```

<211> 1983
<212> DNA
<213> Homo sapiens

5 <300>
<302> MMP2
<310> NM004530

<400> 107
10 atggaggcgc taatggcccg gggcgcgctc acgggtcccc tgagggcgct ctgtctcctg 60
ggctgcctgc tgagccacgc cgccgccgcg ccgtcgccca tcatcaagtt ccccgcgcat 120
gtcgcgccca aaacggacaa agagtgggca gtgcaatacc tgaacacctt ctatggctgc 180
cccaaggaga gctgcaacct gtttgtgctg aaggacacac taaagaagat gcagaagttc 240
tttgactgac ccagacagg tgatcttgac cagaatacca tcgagaccat gcggaagcca 300
15 cgctgcggga acccagatgt ggccaactac aacttcttcc ctcgcaagcc caagtgggac 360
aagaaccaga tcacatacag gatcattggc tacacacctg atctggaccc agagacagtg 420
gatgatgcct ttgctcgtgc cttccaagtc tggagcgatg tgacccact gcggttttct 480
cgaatccatg atggagaggc agacatcatg atcaactttg gccgctggga gcatggcgat 540
ggataccccc ttgacggtaa ggacggactc ctggctcatg ccttcgcccc aggcactggg 600
20 gttgggggag actcccattt tgatgacgat gagctatgga ccttgggaga aggccaaagt 660
gtccgtgtga agtatggcaa cgccgatggg gactactgca agttcccctt cttgttcaat 720
ggcaaggagt acaacagctg cactgatact ggccgcagcg atggcttctt ctggtgctcc 780
accacctaca actttgagaa ggatggcaag tacggcttct gtcccatga agccctgttc 840
accatgggag gcaacgctga aggacagccc tgcaagtttc cattccgctt ccagggcaca 900
25 tcctatgaca gctgcaccac tgaggggcgc acggatgggt accgctgggt cggcaccact 960
gaggactacg accgcgacaa gaagtatggc ttctgcccct agaccgccat gtccactgtt 1020
ggtgggaact cagaagggtc cccctgtgtc ttccccttca ctttcttggg caacaaatat 1080
gagagctgca ccagcgcgag ccgcagtgcg ggaaagatgt ggtgtgagac cacagccaac 1140
tacgatgacg accgcaagtg gggcttctgc cctgaccaag ggtacagcct gttcctctgt 1200
30 gcagcccacg agtttgggca cgccatgggg ctggagcact cccaagaccc tggggccctg 1260
atggcaccca ttacaccta caccaagaac ttccgtctgt ccaggatga catcaagggc 1320
attcaggagc tctatggggc ctctcctgac attgaccttg gcaccggccc cacccccaca 1380
ctggggccctg tctactctga gatctgcaaa caggacattg tatttgatgg catcgtcag 1440
atccgtgggtg agatcttctt cttcaaggac cggttcattt ggccgactgt gacgccacgt 1500
35 gacaagccca tggggccctt gctggtggcc acattctggc ctgagctccc ggaaaagatt 1560
gatgcggtat acgaggcccc acaggaggag aaggctgtgt tctttgcagg gaatgaatac 1620
tggatctact cagccagcac cctggagcga gggtaaccca agccactgac cagcctggga 1680
ctgccccctg atgtccagcg agtggatgcc gcctttaact ggagcaaaaa caagaagaca 1740
tacatctttg ctggagacaa attctggaga tacaatgagg tgaagaagaa aatggatcct 1800
40 ggctttccca agctcatcgc agatgcctgg aatgccatcc ccgataacct ggatgccgtc 1860
gtggacctgc agggcgcgcg tcacagctac ttcttcaagg gtgcctatta cctgaagctg 1920
gagaaccaa gtctgaagag cgtgaagttt ggaagcatca aatccgactg gctaggctgc 1980
tga 1983

45 <210> 108
<211> 1434
<212> DNA
<213> Homo sapiens

50 <300>
<302> MMP2
<310> XM006271

55 <300>
<302> MMP3
<310> XM006271

<400> 108
60 atgaagagtc ttccaatcct actgttgcgt tgcgtggcag tttgctcagc ctatccattg 60
gatggagctg caaggggtga ggacaccagc atgaaccttg ttcagaaata tctagaaaac 120
tactacgacc tcgaaaaaga tgtgaaacag tttgttagga gaaaggacag tggctcctgtt 180

5 gttaaaaaaa tccgagaaat gcagaagttc cttggatttg aggtgacggg gaagctggac 240
 tccgacactc tggaggtgat gcgcaagccc aggtgtggag ttccctgacgt tggctacttc 300
 agaaccctttc ctggcatccc gaagtggagg aaaaccccacc ttacatacag gatttgtgaat 360
 tatacaccag atttgccaaa agatgctggt gattctgctg ttgagaaagc tctgaaagtc 420
 10 tgggaagagg tgactccact cacattctcc aggcctgatg aaggagaggc tgatataatg 480
 atctcttttg cagtttagaga acatggagac ttttaccctt ttgatggacc tggaaatggt 540
 ttggcccatg cctatgcccc tgggcccaggg attaatggag atgcccactt tgatgatgat 600
 gaacaatgga caaaggatac aacagggacc aatttatttc tcgttgctgc tcatgaaatt 660
 ggccactccc tgggtctctt tccactcagcc aacactgaag ctttgatgta cccactctat 720
 15 cactcactca cagacctgac tcggttccgc ctgtctcaag atgatataaa tggcattcag 780
 tccctctatg gacctcccc tgactccctt gagaccccc ttgtaccac ggaacctgtc 840
 cctccagaac ctgggacgcc agccaactgt gatcctgctt tgtcctttga tgctgtcagc 900
 actctgaggg gagaaatcct gatctttaa gacaggcact tttggcgcaa atccctcagg 960
 aagcttgaac ctgaattgca tttgatctct tcattttggc catctcttcc ttcaggcgtg 1020
 20 gatgccgcat atgaagttac tagcaaggac ctcgttttca tttttaaagg aaatcaattc 1080
 tgggccatca gaggaaatga ggtacgagct ggatacccaa gaggcacca caccctagg 1140
 ttccctccaa ccgtgaggaa aatcgatgca gccatttctg ataaggaaaa gaacaaaaca 1200
 tatttctttg tagaggacaa atactggaga tttgatgaga agagaaattc catggagcca 1260
 ggctttccca agcaaatagc tgaagacttt ccagggattg actcaaagat tgatgctgtt 1320
 25 tttgaagaat ttgggttctt ttatttcttt actggatctt cacagttgga gtttgaccca 1380
 aatgcaaaga aagtgcacac cactttgaag agtaacagct ggcttaattg ttga 1434

25 <210> 109
 <211> 1404
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

30 <300>
 <302> MMP8
 <310> NM002424

35 <400> 109
 atgttctccc tgaagacgct tccatttctg ctcttactcc atgtgcagat ttccaaggcc 60
 tttcctgtat ctcttaaaga gaaaaatata aaaactgttc aggactacct ggaaaagttc 120
 taccaattac caagcaacca gtatcagttc acaaggaaga atggcactaa tgtgatcggt 180
 gaaaaagctta aagaaatgca gcgattttt gggttgaatg tgacggggaa gccaaatgag 240
 gaaactctgg acatgatgaa aaagcctcgc tgtggagtgc ctgacagtgg tggttttatg 300
 40 ttaacccag gaaaccccaa gtgggaacgc actaacttga cctacaggat tcgaaactat 360
 accccacagc tgtcagaggc tgaggtagaa agagctatca aggatgcctt tgaactctgg 420
 agtgttgcat cacctctcat cttcaccagg atctcacagg gagaggcaga tatcaacatt 480
 gctttttacc aaagagatca cggtgacaat tctccatttg atggaccaa tggaaatcctt 540
 gctcatgcct ttcagccagg ccaaggatatt ggaggagatg ctcattttga tgccgaagaa 600
 45 acatggacca acacctccgc aaattacaac ttggttcttg ttgctgtca tgaatttggc 660
 cattcttttg ggctcgctca ctccctctgac cctgggtgct tgatgtatcc caactatgct 720
 ttcaggga aa ccagcaacta ctactccct caagatgaca tcgatggcat tcaggccatc 780
 tatggacttt caagcaaccc tatccaacct actggaccaa gcacaccaa accctgtgac 840
 cccagtttga catttgatgc tatcaccaca ctccgtggag aaatactttt ctttaaagac 900
 aggtacttct ggagaaggca tcctcagcta caaagagtgc aaatgaattt tatttctcta 960
 50 tttctggccat cccttccaac tggatatacag gctgcttatg aagattttga cagagacctc 1020
 attttcctat ttaaaggcaa ccaatactgg gctctgagt gctatgatat tctgcaaggt 1080
 tatcccaagg atatatcaaa ctatggcttc cccagcagcg tccaagcaat tgacgcagct 1140
 gttttctaca gaagtaaaac atacttcttt gtaaatgacc aattctggag atatgataac 1200
 caaagacaat tcatggagcc aggttatccc aaaagcatat cagggtgcct tccaggaata 1260
 55 gagagtaaag ttgatgcagt tttccagcaa gaacatttct tccatgtctt cagtggaaca 1320
 agatattacg catttgatct tattgtctcag agagttacca gagttgcaag aggcaataaa 1380
 tggcttaact tgaatatgg ctga 1404

60 <210> 110
 <211> 2124
 <212> DNA

<213> Homo sapiens

<300>

<302> MMP9

5 <310> XM009491

<400> 110

```
atgagcctct ggcagccctt ggtcctgggt ctcctgggtg tgggctgctg ctttctgctg 60
cccagacagc gccagtcac ccttgtgctc ttccctggag acctgagaac caatctcacc 120
gacaggcagc tggcagagga atacctgtac cgctatgggt acactcgggt ggcagagatg 180
cgtggagagt cgaaatctct ggggcctgct ctgctgcttc tccagaagca actgtccctg 240
cccagaccg gtgagctgga tagcgccacg ctgaaggcca tgcgaacccc acggtgcggg 300
gtcccagacc tgggcagatt ccaaaccctt gagggcgacc tcaagtggca ccaccacaac 360
atcacctatt ggatccaaaa ctactcgga gacttgccgc gggcgggtgat tgacgacgcc 420
15 tttgcccgcg ccttcgcact gtggagcgcg gtgacgccgc tcaccttcac tcgctgttac 480
agccgggacg cagacatcgt catccagttt ggtgtcgcg agcacggaga cgggtatccc 540
ttcgacggga aggcgggct cctggcacac gcctttcctc ctggcccccg cattcaggga 600
gacgccatt tcgacgatga cgagttgttg tccctgggca agggcgctcg ggttccaact 660
cggttttgaa acgcagatgg cgcggcctgc cacttcccct tcactcttga gggccgctcc 720
20 tactctgcct gcaccaccga cggctcgtcc gacggcttgc cctggtgcag taccacggcc 780
aactacgaca ccgacgaccg gtttggttcc tgccccagcg agagactcta caccaggac 840
ggcaatgctg atgggaaacc ctgccagttt ccattcatct tccaaggcca atcctactoc 900
gctgcacca cggacggctc ctccgacggc taccgctggt gcgccaccac cgccaactac 960
gaccgggaca agctcttcgg cttctgcccg acccgagctg actcgacggt gatggggggc 1020
25 aactcggcgg gggagctgtg cgtcttcccc ttacttttcc tgggtaagga gtactcgacc 1080
tgtaccagcg agggccgcgg agatgggcgc ctctggtgcg ctaccacctc gaactttgac 1140
agcgacaaga agtggggctt ctgcccgac caaggataca gtttgttcc ctggtggcg 1200
catgagttcg gccacgcgt. gggcttagat cattcctcag tgcggaggc gctcatgtac 1260
cctatgtacc gtttactga ggggcccccc ttgcataagg acgacgtgaa tggcatccgg 1320
30 cacctctatg gtccctcgcc tgaacctgag ccacggcctc caaccaccac cacaccgcag 1380
cccacggctc ccccgacggt ctgccccacc ggacccccca ctgtccaccc ctcagagcgc 1440
cccacagctg gccccacagg tccccctca gctggcccca caggtcccc cactgctggc 1500
cctttctacg ccactactgt gcctttgagt ccggtggacg atgcctgcaa cgtgaacatc 1560
ttcgacgcca tcgcgagat tgggaaccag ctgtatttgt tcaaggatgg gaagtactgg 1620
35 cgattctctg agggcagggg gagccggcgg caggggccct tccttatcgc cgacaagtgg 1680
cccgcgctgc cccgcaagct ggactcggct tttgaggagc ggctctccaa gaagcttttc 1740
ttcttctctg ggcgccaggt gtgggtgtac acaggcgcgt cgggtgctgg cccgagcgt 1800
ctggacaagc tgggcctggg agccgacgtg gccaggtga cggggccct cggagtggtc 1860
agggggaaga tgctgctgtt cagcgggcgg cgcctctgga ggttcgacgt gaaggcgcag 1920
40 atggttgatc cccggagcgc cagcgaggtg gaccggatgt tccccggggt gcctttggac 1980
acgcacgacg tcttccagta ccgagagaaa gcctatttct gccaggaccg cttctactgg 2040
cgcgtgagtt cccggagtga gttgaaccag gtggaccaag tgggtacgt gacctatgac 2100
atcctgcagt gccctgagga ctgag 2124
```

45 <210> 111

<211> 2019

<212> DNA

<213> Homo sapiens

50

<300>

<302> PKC alpha

<310> NM002737

55

<400> 111

```
atggctgacg ttttcccggg caacgactcc acggcgtctc aggacgtggc caaccgcttc 60
gcccgcgctg gggcgctgag gcagaagaac gtgcacgagg tgaaggacca caaatctatc 120
gcgcgcttct tcaagcagcc caccttctgc agccactgca ccgacttcat ctgggggttt 180
gggaaacaag gcttccagtg ccaagtttgc tgttttgtgg tccacaagag gtgccatgaa 240
60 tttgttactt tttcttgtcc ggggtcggat aagggacccg acactgatga cccagggagc 300
aagcacaagt tcaaaatcca cacttacgga agccccacct tctgcatca ctgtgggtca 360
ctgctctatg gacttatcca tcaagggatg aaatgtgaca cctgcgatat gaacgttcac 420
```

	aagcaatg	tcataaat	ccccagc	tgccgaat	atcacact	gaagagggg	480
	cggatttt	ttaaagg	ggttgct	gaaaagct	atgtcac	acgagat	540
	aaaaatc	tccctat	tccaaac	ctttcag	cttatgt	gctgaa	600
	attcctg	ccaaga	aagcaag	aaaaccaa	ccatccg	cacactaa	660
5	ccgcagt	atgagtc	tacattcaa	ttgaaac	cagacaa	ccgacg	720
	tctgtag	tctggga	ggatcga	acaagga	acttcag	atccctt	780
	tttgga	cggagct	gaagatg	gccagtg	ggtaca	gcttaac	840
	gaagaag	agtacta	cgtaccc	ccggaag	acgagga	aaacatg	900
	ctcaggc	aattcg	agccaa	ggccctg	gcaacaa	catcag	960
10	tctgaag	ggaaaca	ttccaac	cttgacc	tgaaact	ggacttc	1020
	ttcctca	tggtggg	ggggagt	ggaaagg	tgcttgc	caggaag	1080
	acagaag	tgtatgc	caaaatc	aagaagg	tggtgat	ggatgat	1140
	gtggagt	ccatgg	aaagcga	ttggcc	ttgacaa	cccgttc	1200
	acgcag	actcctg	ccagac	gatcgg	acttcg	ggaatat	1260
15	aacgg	acctcat	ccacatt	caagtag	aatttaa	accaca	1320
	gtattct	cggcag	ttccat	ttgttct	ttcataa	aggaat	1380
	tataggg	tgaagt	taacgt	ttggatt	aaggaca	caaaat	1440
	gactttg	tgtgca	acacat	gatggag	cgaccag	cttctgt	1500
	actccag	atatcg	agagata	gcttat	cgtatgg	atctgtg	1560
20	tggtggg	atggcgt	gttgtat	atgcttg	ggcagc	atttgat	1620
	gaagatg	acgagct	tcagtct	atggag	acgttct	tccaaa	1680
	ttgtcca	aggctgt	tatctgc	ggactga	ccaaac	agccaag	1740
	ctgggct	ggcctga	ggagagg	gtgagag	atgcctt	ccggagg	1800
	gactggg	aactgg	cagggag	cagccac	tcaagcc	agtgtgt	1860
25	aaaggag	agaactt	caagttc	acacgag	agcccg	aacacc	1920
	gatcag	ttattgt	catagac	tctgatt	aagggt	gtatgt	1980
	ccccagt	tgcaccc	cttacag	gcagtat			2019
30	<210> 112						
	<211> 2022						
	<212> DNA						
	<213> Homo sapiens						
35	<300>						
	<302> PKC beta						
	<310> X07109						
	<400> 112						
40	atggctg	cggctgc	gccgcgc	agcgagg	aggagag	cgtgcg	60
	gcccgca	gcccctc	gcagaag	gtgcatg	tcaaga	caaattc	120
	gcccgtt	tcaagca	caccttc	agccact	ccgactt	ctgggg	180
	gggaagc	gattcca	ccaagtt	tgctttg	tgacaa	gtgccat	240
	tttgtca	tctcctg	tggcgct	aaggttc	cctccga	ccccgc	300
45	aaacaca	ttaagat	cacgtac	agcccc	tttgtga	ctgtggg	360
	ctgctgt	gactcat	ccagggg	aaatgtg	cctgcat	gaatgtg	420
	aagcgct	tgatgat	tcccagc	tgtggca	accacac	gcgccgc	480
	cgcacta	tccaggc	catcgac	gacgtcc	ttgtcct	aagagat	540
	aaaaac	tacctat	ccccaat	ctgtcag	cctacgt	actgaa	600
50	attcccg	ccaaaag	gagcaaa	aagaccaa	ccatcaa	ctccctc	660
	cctgagt	atgagac	tagattc	ctgaaag	cggacaa	cagaag	720
	tcagtag	tttggga	ggatttg	agcagga	acttcag	atctttg	780
	tttggga	ctgaact	gaaggcc	gttgatg	ggttta	actgag	840
	gaggaag	agtactt	tgtgcct	ccaccag	gaagtga	caatga	900
55	ctgcggc	aatttg	ggccaag	agtcagg	ccaaggt	ggaagaa	960
	acgacca	ctgtctc	aatggca	gagaccg	gaaactg		1020
	gatttta	tccta	gctgggg	ggcagct	gcaaggt	gctttc	1080
	cgaaaag	cagatga	ctatgct	aagatcc	agaagg	tgtgat	1140
	gatgatg	tggagt	tatggtg	aagcggt	tgccctg	tggaag	1200
60	cccttc	cccagct	ctcctgt	cagacc	accgct	ctttgt	1260
	gagtac	atgggg	cctcat	cacatcc	aagtcg	gttcaag	1320
	ccccat	tatttt	tgcagaa	gccatcg	tgcttct	acagag	1380

5 ggcatcattt accgtgacct aaaacttgac aacgtgatgc tcgattctga gggacacatc 1440
 aagattgccg attttggcat gtgtaaggaa aacatctggg atggggtgac aaccaagaca 1500
 ttctgtggca ctccagacta catcgcccc gagataattg ctatcagcc ctatgggaag 1560
 tccgtggatt ggtgggcatt tggagtcctg ctgtatgaaa tgttggtgag gcaggcacc 1620
 tttgaagggg aggatgaaga tgaactcttc caatccatca tggacacaaa cgtagcctat 1680
 cccaagtcta tgtccaagga agctgtggcc atctgcaaaag ggctgatgac caaacaccca 1740
 ggcaaacgtc tgggttgtgg acctgaaggg gaacgtgata tcaaagagca tgcatttttc 1800
 cggatatattg attgggagaa acttgaacgc aaagagatcc agccccctta taagccaaa 1860
 gcttgtgggc gaaatgctga aaacttcgac cgatttttca cccgccatcc accagtccta 1920
 10 acacctcccg accaggaagt catcaggaat attgaccaat cagaattoga aggattttcc 1980
 tttgttaact ctgaattttt aaaaccgcaa gtcaagagct aa 2022

<210> 113
 15 <211> 2031
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<300>
 20 <302> PKC delta
 <310> NM006254

<400> 113
 25 atggcgccgt tcctgcgcat cgccttcaac tcctatgagc tgggctccct gcaggccgag 60
 gacgagggca accagccctt ctgtgccgtg aagatgaagg aggcgctcag cacagagcgt 120
 gggaaaacac tgggtgcagaa gaagccgacc atgtatcctg agtggaaagtc gacgttcgat 180
 gccacatctc atgagggggcg cgtcatccag attgtgctaa tgcgggcagc agaggagcca 240
 gtgtctgagg tgaccgtggg tgtgtcgggtg ctggccgagc gctgcaagaa gaacaatggc 300
 aaggctgagt tctggctgga cctgcagcct caggccaagg tgttgatgtc tgttcagtat 360
 30 ttcttgaggg acgtggattg caaacaatct atgcgcagtg aggacgaggc caagttccca 420
 acgatgaacc gccgcggagc catcaaacag gccaaaatcc actacatcaa gaaccatgag 480
 tttatcgcca ccttcttttg gcaacccacc ttctgttctg tgtgcaaaga ctttgtctgg 540
 ggctcaaca agcaaggcta caaatgcagg caatgtaacg ctgccatcca caagaaatgc 600
 atcgacaaga tcatcggcag atgcaactgg acccgggcca acagccggga cactatatcc 660
 35 cagaaagaac gcttcaacat cgacatgccg caccgcttca aggttcacaa ctacatgagc 720
 ccaccttct gtgaccactg cggcagcctg ctctggggac tgggaaagca gggattaaaag 780
 tgtgaagact gcggcatgaa tgtgcacat aaatgccggg agaaggtggc caacctctg 840
 ggcatcaacc agaagctttt ggctgaggcc ttgaaccaag tcaccagag agcctcccg 900
 agatcagact cagcctcctc agagcctgtt gggatatatc agggtttcga gaagaagacc 960
 40 ggagttgctg gggaggacat gcaagacaac agtgggacct acggcaagat ctgggagggc 1020
 agcagcaagt gcaacatcaa caacttcac ttccacaagg tcctgggcaa aggcagcttc 1080
 gggaaagggtc tgcttgga gctgaagggc agaggagagt actctgccat caagccctc 1140
 aagaaggatg tggtcctgat cgacgacgac gtggagtga ccatggttga gaagcgggtg 1200
 ctgacacttg ccgcagagaa tccctttctc acccactca tctgcacctt ccagaccaag 1260
 45 gaccacctgt tctttgtgat ggagttcctc aacggggggg acctgatgta ccacatccag 1320
 gacaaaggcc gctttgaact ctaccgtgcc acgttttatg ccgctgagat aatgtgtgga 1380
 ctgcagtttc tacacagcaa gggcatcatt tacagggacc tcaaaactgga caatgtgctg 1440
 ttggaccggg atggccacat caagattgcc gactttggga tgtgcaaaga gaacatattc 1500
 ggggagagcc gggccagcac cttctgcggc acccctgact atatcgcccc tgagatccta 1560
 50 cagggcctga agtacacatt ctctgtggac tgggtgtctt tcggggtcct tctgtacgag 1620
 atgtctattg gccagtcccc ctccatggt gatgatgagg atgaactctt cgagtcctatc 1680
 cgtgtggaca gccacatta tcccgcctgg atcaccaagg agtccaagga catcctggag 1740
 aagctctttg aaagggaacc aaccaagagg ctgggaatga cgggaaacat caaaatccac 1800
 cccttcttca agaccataaa ctggactctg ctggaagagc ggaggttggg gccacccttc 1860
 55 agggccaaag tgaagtcacc cagagactac agtaactttg accaggagtt cctgaacgag 1920
 aaggcgcgcc tctcctacag cgacaagaac ctcacgact ccatggacca gtctgcattc 1980
 gctggccttc cttttgtgaa ccccaaattc gagcacctcc tggagattg a 2031

60 <210> 114
 <211> 2049
 <212> DNA

<213> Homo sapiens

<300>
<302> PKC eta
5 <310> NM006255

<400> 114
atgtcgtctg gcaccatgaa gttcaatggc tatttgaggg tccgcatcgg tgaggcagtg 60
gggctgcagc ccacccgctg gtccctgcgc cactcgtctt tcaagaaggg ccaccagctg 120
10 ctggaccctt atctgacggt gagcgtggac cagggtgcgcg tgggcccagac cagcaccaag 180
cagaagacca acaaaccacac gtacaacgag gatttttgcg ctaacgtcac cgacggcggc 240
cacctcagag tggccgtctt ccacgagacc cccctgggct acgacttcgt ggccaactgc 300
accctgcagt tccaggagct cgtcggcacg accggcgccct cggacacctt cgagggttgg 360
gtggatctcg agccagaggg gaaagtattt gtggtataaa cccttaccgg gagtttctact 420
15 gaagctactc tccagagaga cggatcttcc aaacatttta ccaggaagcg ccaaagggct 480
atgccaaggg gagtccacca gatcaatgga cacaagttca tggccacgta tctgaggcag 540
cccacctact gctctcactg cagggtggtt atctggggag tggttgggaa acagggttat 600
cagtgccaaag tgtgcacctg tgtcgtccat aaacgctgcc atcatctaata tgttacagcc 660
tgtacttgcc aaaacaatat taacaagtgt gattcaaaga ttgcagaaca gaggttcggg 720
20 atcaacatcc cacacaagtt cagcatccac aactacaaag tgccaacatt ctgcgacac 780
tgtggctcac tgetctgggg aataatgcga caaggacttc agtgtaaaat atgtaaaatg 840
aatgtgcata ttcgatgtca agcgaacgtg gccctaact gtggggtaaa tgcgggtgaa 900
cttgccaaga ccctggcagg gatgggtctc caaccgggaa atatttctcc aacctcgaaa 960
ctcgtttcca gatcgaccct aagacgacag ggaaaggaga gcagcaaaga aggaaatggg 1020
25 attgggggta attcttccaa ccgacttggg atcgacaact ttgagttcat ccgagtgttg 1080
gggaagggga gttttgggaa ggtgatgctt gcaagagtaa aagaacagg agacctctat 1140
gctgtgaagg tgctgaagaa ggacgtgatt ctgctggatg atgatgtgga atgcaccatg 1200
accgagaaaa ggatcctgtc tctggcccgcc aatcacccct tcctcactca gttgttctgc 1260
tgctttcaga cccccgatcg tctgtttttt gtgatggagt ttgtgaatgg ggggtgacttg 1320
30 atgttccaca ttcagaagtc tctcgttttt gatgaagcac gagctcgtt ctatgctgca 1380
gaaatcattt cggctctcat gttctccat gataaaggaa tcactctatag agatctgaaa 1440
ctggacaatg tcctgttggg ccacgagggg cactgtaaac tggcagactt cggaatgtgc 1500
aaggagggga tttgcaatgg tgtcaccacg gccacattct gtggcacgcc agactatata 1560
gctccagaga tcctccagga aatgctgtac gggcctgcag tagactggtg ggcaatgggc 1620
35 gtgttgctct atgagatgct ctgtgttcac gcgccttttg aggcagagaa tgaagatgac 1680
ctctttgagg ccatactgaa tgatgaggtg gtctacccta cctggctcca tgaagatgcc 1740
acagggaatc taaaatcttt catgaccaag aaccccacca tgcgcttggg cagcctgact 1800
cagggaggcg agcacgccat cttgagacat ccttttttta aggaaatcga ctgggcccag 1860
ctgaaccatc gccaaataga accgcctttc agaccagaa tcaaataccg agaagatgtc 1920
40 agtaattttg accctgactt cataaaggaa gagccagttt taactccaat tgatgaggga 1980
catcttccaa tgattaacca ggatgagttt agaaactttt cctatgtgtc tccagaattg 2040
caaccatag 2049

45 <210> 115
<211> 948
<212> DNA
<213> Homo sapiens

50 <300>
<302> PKC epsilon
<310> XM002370

<400> 115
55 atgttggcag aactcaaggg caaagatgaa gtatatgctg tgaaggtctt aaagaaggac 60
gtcatccttc aggatgatga cgtggactgc acaatgacag agaagaggat tttggctctg 120
gcacggaaac acccgtacct taccnaactc tactgtgct tccagaccaa ggaccgcctc 180
tttttcgtca tggaaatatgt aaatggtgga gacctcatgt ttcagattca gcgctcccga 240
aaattcgacg agcctcgttc acggttctat gctgcagagg tcacatcggc cctcatgttc 300
60 ctccaccagc atggagtcac ctacagggat ttgaaactgg acaacatcct tctggatgca 360
gaaggtcact gcaagctggc tgacttcggg atgtgcaagg aagggtattc gaatggtgtg 420
acgaccacca cgttctgtgg gactcctgac tacatagctc ctgagatcct gcaggagttg 480

gagtatggcc cctccgtgga ctggtgggccc ctgggggtgc tgatgtacga gatgatggct 540
 ggacagcctc cctttgaggc cgacaatgag gacgacctat ttgagtccat cctccatgac 600
 gacgtgctgt acccagctctg gctcagcaag gaggtgtca gcatcttgaa agctttcatg 660
 acgaagaatc cccacaagcg cctgggctgt gtggcatcgc agaatggcga ggacgccatc 720
 5 aagcagcacc cattcttcaa agagattgac tgggtgctcc tggagcagaa gaagatcaag 780
 ccacccttca aaccacgcat taaaaccaa agagacgtca ataattttga ccaagacttt 840
 acccgggaag agccggtact cacccttggt gacgaagcaa ttgtaaagca gatcaaccag 900
 gaggaattca aaggttttct ctactttggt gaagacctga tgcctga 948

10 <210> 116
 <211> 1764
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

15 <300>
 <302> PKC iota
 <310> NM002740

20 <400> 116
 atgtcccaca cggtcgcagg cggcggcagc ggggaccatt cccaccaggt ccgggtgaaa 60
 gcctactacc gcggggatat catgataaca cattttgaac cttccatctc ctttgagggc 120
 ctttgcaatg aggttcgaga catgtgttct tttgacaacg aacagctctt caccatgaaa 180
 tggatagatg aggaaggaga cccgtgtaca gtatcatctc agttggagtt agaagaagcc 240
 25 tttagacttt atgagctaaa caaggattct gaactcttga ttcattgtgt cccttgtgta 300
 ccagaacgtc ctgggatgcc ttgtccagga gaagataaat ccactaccg tagagggtgca 360
 cgccgctgga gaaagcttta ttgtgccaat ggccacactt tccaagccaa gcgtttcaac 420
 aggcgtgctc actgtgccat ctgcacagac cgaatatggg gacttggacg ccaaggatat 480
 aagtgcatac actgcaaact cttggttcat aagaagtgcc ataaactcgt cacaattgaa 540
 30 tgtggggcggc attctttgcc acaggaacca gtgatgcccc tggatcagtc atccatgcat 600
 tctgaccatg cacagacagt aattccatat aatccttcaa gtcattgagag tttggatcaa 660
 gttggtgaag aaaaagaggc aatgaacacc agggaaagtg gcaaagcttc atccagtcta 720
 ggtcttcagg attttgattt gctccgggta ataggaagag gaagtatatg caaagtactg 780
 ttggttcgat taacaaaaaac agatcgtatt tatgcaatga aagttgtgaa aaaagagctt 840
 35 gttaaatgatg atgaggatat tgattgggta cagacagaga agcatgtgtt tgagcaggca 900
 tccaatcatc ctttccttgt tgggctgcat tcttgctttc agacagaaaag cagattgttc 960
 tttgttatag agtatgtaaa tggaggagac ctaatgtttc atatgcagcg acaaaagaaa 1020
 cttcctgaag aacatgccag attttactct gcagaaatca gtctagcatt aaattatctt 1080
 catgagcgag ggataattta tagagatttg aaactggaca atgtattact ggactctgaa 1140
 40 ggccacatta aactcactga ctacggcatg tgtaaggagag gattacggcc aggagatata 1200
 accagcactt tctgtggtac tcctaattac attgtcctctg aaattttaag aggagaagat 1260
 tatggtttca gtgttgactg gtgggctctt ggagtgtcga tgtttgagat gatggcagga 1320
 aggtctccat ttgatattgt tgggagctcc gataaccctg accagaacac agaggattat 1380
 ctcttccaag ttatttttga aaaacaaatt cgcataccac gttctctgtc tgtaaaagct 1440
 45 gcaagtgttc tgaagagttt tcttaataag gaccctaagg aacgattggg ttgtcatcct 1500
 caaacaggat ttgctgatat tcaggggacac ccgttcttcc gaaatgttga ttgggatatg 1560
 atggagcaaa aacagtggtt acctccctt aaaccaata tttctgggga atttggtttg 1620
 gacaactttg attctcagtt tactaatgaa cctgtccagc tactccaga tgacgatgac 1680
 attgtgagga agattgatca gtctgaattt gaaggttttg agtatatcaa tcctcttttg 1740
 50 atgtctgcag aagaatgtgt ctga 1764

55 <210> 117
 <211> 2451
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

60 <300>
 <302> PKC mu
 <310> XM007234

<400> 117

	atgtatgata	agatcctgct	ttttcgccat	gaccctacct	ctgaaaacat	ccttcagctg	60
	gtgaaagcgg	ccagtgatat	ccaggaaggc	gatcttattg	aagtggctct	gtcagcttcc	120
	gccacctttg	aagactttca	gattcgtccc	cacgctctct	ttgttcattc	atacagagct	180
	ccagctttct	gtgatcactg	tggagaaatg	ctgtgggggc	tggtagctca	aggtcttaaa	240
5	tgtgaagggg	gtggtctgaa	ttaccataag	agatgtgcat	ttaaaatacc	caacaattgc	300
	agcgggtgtg	ggcggagaag	gctctcaaac	gtttccctca	ctgggggtcag	caccatccgc	360
	acatcatctg	ctgaactctc	tacaagtgcc	ccctgatgagc	cccttctgca	aaaatcacca	420
	tcagagtcgt	ttattggctg	agagaagagg	tcaaattctc	aatcatacat	tggacgacca	480
	attcaccttg	acaagatttt	gatgtctaaa	gttaaagtgc	cgcacacatt	tgtcatccac	540
10	tcctacaccc	ggcccacagt	gtgccagtac	tgcaagaagc	ttctgaaggg	gcttttccagg	600
	cagggcttgc	agtgcacaag	ttgcagattc	aactgccata	aacgttgtgc	accgaaagta	660
	ccaaacaact	gccttggcga	agtgaccatt	aatggagatt	tgcttagccc	tggggcagag	720
	tctgatgtgg	tcattggaag	agggagtgat	gacaatgata	gtgaaaggaa	cagtgggctc	780
	atggatgata	tggagaagc	aatggtccaa	gatgcagaga	tggcaatggc	agagtggcag	840
15	aacgacagtg	gcgagatgca	agatccagac	ccagaccacg	aggacgcaa	cagaaccatc	900
	agtccatcaa	caagcaacaa	tatccactc	atgagggtag	tgcagtctgt	caaacacacg	960
	aagaggaaaa	gcagcacagt	catgaaagaa	ggatggatgg	tccactacac	cagcaaggac	1020
	acgctgcgga	aacggcacta	ttggagattg	gatagcaaat	gtattaccct	ccttcagaat	1080
	gacacaggaa	gcaggtacta	caaggaaatt	cctttatctg	aaattttgtc	tctggaacca	1140
20	gtaaaaactt	cagctttaat	tcctaattggg	gccaatcctc	attgtttcga	aatcactacg	1200
	gcaaatgtag	tgtattatgt	gggagaaaa	gtggtcaatc	cctccagccc	atcaccaaat	1260
	aacagtgttc	tcaccagtgg	cgttggtgca	gatgtggcca	ggatgtggga	gatagccatc	1320
	cagcatgccc	ttatgcccgt	cattcccaag	ggctcctccg	tgggtacagg	aaccaacttg	1380
	cacagagata	tctctgtgag	tatttcagta	tcaaattgcc	agattcaaga	aatgtgggac	1440
25	atcagcacag	tatatcagat	ttttcctgat	gaagtactgg	gttctggaca	gtttggaatt	1500
	gtttatggag	gaaaacatcg	taaaacagga	agagatgtag	ctattaaaa	cattgacaaa	1560
	ttacgatttc	caacaaaaca	agaaagccag	ccttcgtaatg	aggttgcaat	tctacagaa	1620
	cttcacacac	ctggtgttgt	aaatttggag	tgtatgtttg	agacgcctga	aagagtgttt	1680
	gttggtatgg	aaaaactcca	tggagacatg	ctggaaatga	tcttgtcaag	tgaaaagggc	1740
30	aggttgccag	agcacataac	gaagttttta	attactcaga	tactcgtggc	tttgcgccac	1800
	cttcatttta	aaaatatcgt	tcactgtgac	ctcaaaccag	aaaatgtgtt	gctagcctca	1860
	gctgatcctt	ttcctcaggt	gaaactttgt	gattttgggt	ttgcccggat	cattggagag	1920
	aagtctttcc	ggaggtcagt	gggtgggtacc	cccgcctacc	tggctcctga	ggctcctaagg	1980
	aacaagggct	acaatcgctc	tctagacatg	tggctctgtg	gggtcatcat	ctatgtaagc	2040
35	ctaagcggca	cattcccatt	taatgaagat	gaagacatac	acgaccaa	tcagaatgca	2100
	gctttcatgt	atccacaaaa	tccttggaag	gaaatatctc	atgaagccat	tgatctttatc	2160
	agcaattttg	tgcaagttaa	cgctacagtg	tggataagac	cttgagccac	cttgagccac	2220
	ccttggtctac	aggactatca	gacctggtta	gatttgcgag	agctgggaatg	caaaatcggg	2280
	gagcgtaca	tcacccatga	aagtgatgac	ctgaggtggg	agaagtatgc	aggcgagcag	2340
40	gggctgcagt	acccacacac	cctgatcaat	ccaagtgcata	gccacagtga	cactcctgag	2400
	actgaagaaa	cagaaatgaa	agccctcggt	gagcgtgtca	gcatectatg	a	2451
	<210>	118					
45	<211>	2673					
	<212>	DNA					
	<213>	Homo sapiens					
	<300>						
50	<302>	PKC nu					
	<310>	NM005813					
	<400>	118					
	atgtctgcaa	ataattcccc	tccatcagcc	cagaagtctg	tattaccac	agctatttct	60
55	gctgtgcttc	cagctgttcc	tccgtgttca	agtcctaaga	cgggactctc	tgcccagactc	120
	tctaattggaa	gtttcagtgc	accatcactc	accaactcca	gaggctcagt	gcatacagtt	180
	tcattttctac	tgc aaattgg	cctcacacgg	gagagtgtta	ccattgaagc	ccaggaactg	240
	tctttatctg	ctgtcaagga	tcttgtgtgc	tccatagtgt	atcaaaagt	tccagagtgt	300
	ggattctttg	gcattgtatga	caaaattctt	ctctttcgcc	atgacatgaa	ctcagaaaac	360
60	attttgcagc	tgattacctc	agcagatgaa	atacatgaag	gagacctagt	ggaagtgggt	420
	ccttcagctt	tagccacagt	agaagacttc	cagattcgtc	cacatactct	ctatgtacat	480
	tcttacaag	ctcctacttt	ctgtgattac	tgtggtgaga	tgtgtgtggg	attggtacgt	540

caaggactga aatgtgaagg ctgtggatta aattaccata aacgatgtgc cttcaagatt 600
 ccaaataact gtagtggagt aagaaagaga cgtctgtcaa atgtatcttt accaggaccc 660
 ggcctctcag ttccaagacc cctacagcct gaatatgtag cccttcccag tgaagagtca 720
 5 caatgtccacc aggaaccaag taagagaatt ccttcttgga gtggctgccc aatctggatg 780
 gaaaagatgg taatgtgcag agtgaaagtt ccacacacat ttgctgttca ctcttacacc 840
 cgtcccacga tatgtcagta ctgcaagcgg ttactgaaag gcctctttcg ccaaggaatg 900
 cagtgtaaag attgcaaatt caactgccat aaacgctgtg catcaaaagt accaagagac 960
 tgccttggag aggttacttt caatggagaa ccttccagtc tgggaacaga tacagatata 1020
 10 ccaatggata ttgacaataa tgacataaat agtgatagta gtcgggggttt ggatgacaca 1080
 gaagagccat cacccccaga agataagatg ttcttcttgg atccatctga tctcgatgtg 1140
 gaaagagatg aagaagccgt taaaacaatc agtccatcaa caagcaataa tattccgcta 1200
 atgaggggtg tacaatccat caagcacaca aagaggaaga gcagcacaaat ggtgaaggaa 1260
 ggggtggatgg tccattacac cagcagggat aacctgagaa agaggcatta ttggagactt 1320
 gacagcaaat gtctaacatt atttcagaat gaatctggat caaagtatta taaggaaatt 1380
 15 ccactttcag aaatttctcg catatcttca ccacgagatt tcacaaacat ttcacaaggc 1440
 agcaatccac actgttttga aatcattact gatactatgg tatacttctg ttggtgagaac 1500
 aatggggaca gctctcataa tcctgttctt gctgccactg gagttggact tgatgtagca 1560
 cagagctggg aaaaagcaat tcgccaagcc ctcatgcctg ttactcctca agcaagtgtt 1620
 tgcacttctc cagggcaagg gaaagatcac aaagatttgt ctacaagtat ctctgtatct 1680
 20 aattgtcaga ttcaggagaa tgtggatata agtactgttt accagatctt tgcagatgag 1740
 gtgcttgggt caggccagtt tggcatcggt tatggaggaa aacatagaaa gactgggagg 1800
 gatgtggcta ttaaagtaat tgataagatg agattcccca caaaacaaga aagtcaactc 1860
 cgtaatgaag tggctatttt acagaatttg caccatcctg ggattgtaaa cctggaatgt 1920
 atgtttgaaa ccccagaacg agtcttttga gtaatggaaa agctgcatgg agatatgttg 1980
 25 gaaatgatcc tatccagtga gaaaagtcgg ctccagaaac gaattactaa attcatgggtc 2040
 acacagatac ttgttgcttt gaggaatctg cattttaaga atattgtgca ctgtgattta 2100
 aagccagaaa atgtgtctgt tgcatacagca gagccatttc ctcaggtgaa gctgtgtgac 2160
 tttggatttg cacgcatcat tgggtgaaaag tcattcagga gatctgtggg aggaactcca 2220
 gcatacttag cccctgaagt tctccggagc aaaggttaca accgttcctt agatatgtgg 2280
 30 tcagtgggag ttatcatcta tgtgagcctc agtggcacat ttctttttaa tgaggatgaa 2340
 gatataaatg accaaatcca aaatgctgca ttatgtacc caccaaatcc atggaagaa 2400
 atttctgggtg aagcaattga tctgataaac aatctgcttc aagtgaagat gagaaaacgt 2460
 tacagtgttg acaaattctt tagtcatccc tggctacagg actatcagac ttggcttgac 2520
 cttagagaat ttgaaactcg cattggagaa cgttacatta cacatgaaag tgatgatgct 2580
 35 cgctgggaaa tacatgcata cacacataac cttgtatacc caaagcactt cattatggct 2640
 cctaattccag atgatatgga agaagatcct taa 2673

<210> 119
 40 <211> 2121
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<300>
 45 <302> PKC tau
 <310> NM006257

<400> 119
 50 atgtcgccat ttcttcggat tggcttgtcc aactttgact gcgggtcctg ccagtcttgt 60
 cagggcgagg ctgttaaccc ttactgtgct gtgctcgta aagagtatgt cgaatcagag 120
 aacgggctga tgtatatcca gaaaaagcct accatgtacc caccctggga cagcactttt 180
 gatgcccata tcaacaaggg aagagtcattg cagatcattg tgaaaggcaa aaacgtggac 240
 ctcatctctg aaaccaccgt ggagctctac tcgctggctg agaggtgcag gaagaacaac 300
 ggggaagacag aaatatggtt agagctgaaa cctcaaggcc gaatgctaataaat 360
 55 tactttcttg aaatgagtga cacaaggagc atgaatgaat ttgagacgga aggtctcttt 420
 gctttgcatc agcgccgggg tgccatcaag caggcaagg tccaccacgt caagtgccac 480
 gagttcactg ccaccttctt cccacagccc acattttgct ctgtctgcca cgagtttgtc 540
 tggggcctga acaaacaggg ctaccagtgc cgacaatgca atgcagcaat tcacaagaag 600
 tgtattgata aagttatagc aaagtgcaca ggatcagcta tcaatagccg agaaaccatg 660
 60 ttccacaagg agagattcaa aattgacatg ccacacagat ttaaagtcta caattacaag 720
 agcccagcct tctgtgaaca ctgtgtggac ctgctgtggg gactggcacg gcaaggactg 780
 aagtgtgatg catgtggcat gaatgtgcat catagatgcc agacaaagggt ggccaacctt 840

	tgtggcataa	accagaagct	aatggctgaa	gcgctggcca	tgattgagag	cactcaacag	900
	gctcgctgct	taagagatac	tgaacagatc	ttcagagaag	gtccggttga	aattggtctc	960
	ccatgctcca	tcaaaaatga	agcaaggccg	ccatgtttac	cgacaccggg	aaaaagagag	1020
	cctcagggca	tttctcggga	gtctccgttg	gatgaggttg	ataaaatgtg	ccatcttcca	1080
5	gaacctgaac	tgaacaaaga	aagaccatct	ctgcagatta	aactaaaaat	tgaggatttt	1140
	atcttgcaca	aaatgttggg	gaaaggaagt	tttggcaagg	tcttcctggc	agaattcaag	1200
	aaaaccaatc	aattttttcgc	aataaaggcc	ttaaagaaag	atgtggtctt	gatggacgat	1260
	gatgttgagt	gcacgatggg	agagaagaga	gttctttcct	tggcctggga	gcatccgttt	1320
	ctgacgcaca	tgttttgtag	attccagacc	aaggaaaacc	tcttttttgt	gatggagtac	1380
10	ctcaacggag	gggacttaat	gtaccacatc	caaagctgcc	acaagttcga	cctttccaga	1440
	gcgacgtttt	atgctgctga	aatcattctt	ggctctgcagt	tccttcattc	caaaggaata	1500
	gtctacaggg	acctgaagct	agataacatc	ctgttagaca	aagatggaca	tatcaagatc	1560
	gcggattttg	gaatgtgcaa	ggagaacatg	ttaggagatg	ccaagacgaa	taccttctgt	1620
	gggacacctg	actacatcgc	cccagagatc	ttgctgggtc	agaaatacaa	ccactctgtg	1680
15	gactgggtgg	ccttcggggg	tctcctttat	gaaatgctga	ttggctcagtc	gcctttccac	1740
	gggcaggatg	aggaggagct	cttcactcc	atccgcagtg	acaatccctt	ttaccacagg	1800
	tggctggaga	aggaagcaaa	ggaccttctg	gtgaagctct	tcgtgcgaga	acctgagaag	1860
	aggctgggag	tgaggggaga	catccgccag	caccttttgt	ttcgggagat	caactgggag	1920
	gaacttgaac	ggaaggagat	tgaccacccg	ttccggccga	aagtgaatc	accatttgac	1980
20	tgacgcaatt	tcgacaaaga	attcttaaac	gagaagcccc	ggctgtcatt	tgccgacaga	2040
	gcactgatca	acagcatgga	ccagaatatg	ttcaggaact	tttccttcac	gaacccccgg	2100
	atggagcggc	tgatatcctg	a				2121
25	<210> 120						
	<211> 1779						
	<212> DNA						
	<213> Homo sapiens						
30	<300>						
	<302> PKC zeta						
	<310> NM2744						
	<400> 120						
35	atgccagca	ggaccgaccc	caagatggaa	gggagcggcg	gccgcgtccg	cctcaaggcg	60
	cattacgggg	gggacatctt	catcaccage	gtggacgccg	ccacgacctt	cgaggagctc	120
	tgtgaggaag	tgagagacat	gtgtcgtctg	caccagcagc	accgcctcac	cctcaagtgg	180
	gtggacagcg	aagggtgacc	ttgcacggtg	tcctcccaga	tggagctgga	agaggctttc	240
	cgcctggccc	gtcagtgacg	ggatgaaggc	ctcatcatte	atgttttccc	gagcaccctt	300
40	gagcagcctg	gcctgccatg	tccgggagaa	gacaaatcta	tctaccgccc	gggagccaga	360
	agatggagga	agctgtaccg	tgccaacggc	cacctcttcc	aagccaagcg	ctttaacagg	420
	agagcgtact	gcggctcagtg	cagcgagagg	atatggggcc	tcgcgaggca	aggctacagg	480
	tgcatcaact	gcaaaactgct	ggccataaag	cgctgccacg	gcctcgtccc	gctgacctgc	540
	aggaagcata	tggattctgt	catgccttcc	caagagcctc	cagtagacga	caagaacgag	600
45	gacgccgacc	ttccttccga	ggagacagat	ggaattgctt	acatttcctc	atcccgggaag	660
	catgacagca	ttaaagacga	ctcggaggac	cttaagccag	ttatcgatgg	gatggatgga	720
	atcaaaatct	ctcaggggct	tgggctgcag	gactttgacc	taatcagagt	catcggggcg	780
	gggagctacg	ccaaggttct	cctgggtcgg	ttgaagaaga	atgaccaa	ttacggcatg	840
	aaagtgggtga	agaaagagct	ggtgcatgat	gacgaggata	ttgactgggt	acagacagag	900
50	aagcacgtgt	ttgagcaggc	atccagcaac	cccttcctgg	tcggattaca	ctcctgcttc	960
	cagacgacaa	gtcggttgtt	cctggctcatt	gagtacgtca	acggcgggga	cctgatgttc	1020
	cacatgcaga	ggcagaggaa	gctccctgag	gagcacgcca	ggttctacgc	ggccgagatc	1080
	tgcatcgccc	tcaacttctt	gcacgagagg	gggatcatct	acagggacct	gaagctggac	1140
	aacgtcctcc	tggatgcgga	cgggcacatc	aagctcacag	actacggcat	gtgcaaggaa	1200
55	ggcctggggc	ctggtgacac	aacgagcact	ttctgcggaa	ccccgaatta	catcgcccc	1260
	gaaatcctgc	ggggagagga	gtacgggttc	agcgtggact	ggtggggcgt	gggagtcctc	1320
	atgttttgaga	tgttgccggg	gcgctccccc	ctcgacatca	tcaccgacaa	cccgacatg	1380
	aacacagagg	actacctttt	ccaagtgtat	ctggagaagc	ccatccggat	ccccgggttc	1440
	ctgtccgtca	aagcctccca	tgttttaaaa	ggatttttaa	ataaggaccc	caaagagagg	1500
60	ctcggctgcc	ggccacagac	tggattttct	gacatcaagt	cccacgcgtt	cttcgcgacg	1560
	atagactggg	acttgctgga	gaagaagcag	gcgctccctc	cattccagcc	acagatcaca	1620
	gacgactacg	gtctggacaa	ctttgacaca	cagttcacca	gcgagcccg	gcagctgacc	1680

ccagacgatg aggatgccat aaagaggatc gaccagtcag agttcgaagg ctttgagtat 1740
atcaacccat tattgctgtc caccgaggag tcggtgtga 1779

5 <210> 121
<211> 576
<212> DNA
<213> Homo sapiens

10 <300>
<302> VEGF
<310> NM003376

15 <400> 121
atgaactttc tgctgtcttg ggtgcatttg agccttgccct tgctgtctcta cctccaccat 60
gccaagtggg cccaggctgc acccatggca gaaggaggag ggcagaatca tcacgaagtg 120
gtgaagtcca tggatgtcta tcagcgagc tactgccatc caatcgagac cctgggtggac 180
atcttccagg agtaccctga tgagatcgag tacatcttca agccatcctg tgtgcccctg 240
atgcgatgcg ggggctgctg caatgacgag ggcctggagt gtgtgcccac tgaggagtcc 300
20 aacatcacca tgcagattat gcgatcaaaa cctcaccaag gccagcacat aggagagatg 360
agcttcctac agcacaacaa atgtgaatgc agaccaaaga aagatagagc aagacaagaa 420
aatccctgtg ggccttgctc agagcggaga aagcatttgt ttgtacaaga tccgcagacg 480
tgtaaatgtt cctgcaaaaa cacagactcg cgttgcaagg cgaggcagct tgagttaaac 540
gaacgtactt gcagatgtga caagccgagg cggtga 576

25 <210> 122
<211> 624
<212> DNA
30 <213> Homo sapiens

<300>
<302> VEGF B
<310> NM003377

35 <400> 122
atgagccctc tgctccgccc cctgctgctc gccgcactcc tgcagctggc ccccgcccag 60
gcccctgtct cccagcctga tgcccctggc caccagagga aagtgggtgc atggatagat 120
gtgtatactc gcgctacctg ccagccccgg gaggtgggtg tgcccttgac tgtggagtgc 180
40 atgggcaccg tggccaaaca gctgggtgcc agctgcgtga ctgtgcagcg ctgtgggtggc 240
tgctgccttg accatggcct ggagtgtgtg cccactgggc agcaccaagt ccggtatgcag 300
atctcatga tccgggtacc gagcagtcag ctggggggaga tgtccctgga agaacacagc 360
cagtgtgaat gcagacctaa aaaaaaggac agtgcgtgta agccagacag ggctgccact 420
ccccaccacc gtccccagcc ccgttctgtt ccgggctggg actctgcccc cggagcacc 480
45 tccccagctg acatcaccca tcccactcca gcccagggc cctctgcccc cgctgcaccc 540
agcaccacca gcgccctgac ccccggaact gccgcgcgcg ctgccgacgc cgcagcttcc 600
tccgttgcca agggcggggc ttag 624

50 <210> 123
<211> 1260
<212> DNA
<213> Homo sapiens

55 <300>
<302> VEGF C
<310> NM005429

60 <400> 123
atgcacttgc tgggcttctt ctctgtggcg tgttctctgc tcgcccgtgc gctgctcccc 60
ggtcctcgcg aggcgcccgc cgccgcgcgc gccttcagat ccggactcga cctctcggac 120
gcggagcccc acgcgggcca ggcacggct tatgcaagca aagatctgga ggagcagtta 180

5 cggtctgtgt ccagtgtaga tgaactcatg actgtactct acccagaata ttggaaaatg 240
 tacaagtgtc agctaaggaa aggaggtgg caacataaca gagaacaggc caacctcaac 300
 tcaaggacag aagagactat aaaatttgct gcagcacatt ataatacaga gatcttgaag 360
 agtattgata atgagtgagg aaagactcaa tgcattgccac gggaggtgtg tatagatgtg 420
 10 gggaaggagt ttggagtgcg gacaaacacc ttctttaaac ctccatgtgt gtccgtctac 480
 agatgtgggg gttgctgcaa tagtgagggg ctgcagtgcg tgaacaccag cacgagctac 540
 ctacagcaaga cgttatttga aattacagtg cctctctctc aaggccccc accagtaaca 600
 atcagttttg ccaatcacac ttctgcccga tgcattgtct aactggatgt ttacagacaa 660
 gtccattcca ttattagacg ttccctgccg gcaacactac cacagtgtca ggcagcgaac 720
 15 aagacctgcc ccaccaatta catgtggaat aatcacatct gcagatgcct ggctcaggaa 780
 gattttatgt ttctctcgga tgctggagat gactcaacag atggattcca tgacatctgt 840
 ggaccaaaca aggagctgga tgaagagacc tgcagtgtg tctgcagagc ggggcttcgg 900
 cctgccagct gtggacccca caaagaacta gacagaaact catgccagtg tgtctgtaa 960
 aacaaactct tccccagcca atgtggggcc aaccgagaat ttgatgaaa cacatgccag 1020
 20 tgtgtatgta aaagaacctg ccccgaaaat caaccctaa atcctggaaa atgtgctgt 1080
 gaatgtacag aaagtccaca gaaatgcttg ttaaaaggaa agaagttcca ccaccaaca 1140
 tgcagctgtt acagacggcc atgtacgaac gcacagaagg cttgtgagcc aggatcttca 1200
 tatagtgaag aagtgtgtcg ttgtgtccct tcatattgga aaagaccaca aatgagctaa 1260

 25 <210> 124
 <211> 1074
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

 30 <300>
 <302> VEGF D
 <310> AJ000185

 35 <400> 124
 atattcaaaa tgtacagaga gtgggtagtgt gtgaatgttt tcatgatgtt gtacgtccag 60
 ctgggtgcagg gctccagtaa tgaacatgga ccagtgaagc gatcatctca gtccacattg 120
 gaacgatctg aacagcagat cagggctgct tctagtgttg aggaactact tcgaattact 180
 40 cactctgagg actggaagct gtggagatgc aggttgaggc tcaaaagttt taccagtatg 240
 gactctcgct cagcatccca tcggtccact aggtttgagg caactttcta tgacattgaa 300
 acactaaaag ttatagatga agaattggaa agaactcagt gcagccctag agaaacgtgc 360
 gtggaggtgg ccagtgcgct ggggaagagt accaacacat tcttcaagcc ccctgtgtg 420
 aacgtgttcc gatgtggtgg ctgttgcaat gaagagagcc ttatctgtat gaacaccagc 480
 acctcgtaca ttccaaaca gctctttgag atatcagtgc ctttgacatc agtacctgaa 540
 45 ttagtgccctg ttaaagtgtg caatcataca gggtgtaagt gcttgccaac agccccccgc 600
 catccatact caattatcag aagatccatc cagatccctg aagaagatcg ctgttcccat 660
 tccaagaaac tctgtcctat tgacatgcta tgggtagca acaaatgtaa atgtgtttg 720
 caggaggaaa atccacttgc tggaaacagaa gaccactctc atctccagga accagctctc 780
 tgtggggccac acatgatgtt tgacgaagat cgttgcgagt gtgtctgtaa aacaccatgt 840
 50 cccaaagatc taatccagca ccccaaaaac tgcagttgct ttgagtgcga agaaagtctg 900
 gagacctgct gccagaagca caagctattt caccagaca cctgcagctg tgaggacaga 960
 tgcccccttc ataccagacc atgtgcaagt ggcaaaacag catgtgcaaa gcattgcccgc 1020
 tttccaaagg agaaaagggc tgcccagggg cccacagacc gaaagaatcc ttga 1074

 55 <210> 125
 <211> 1314
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

 60 <300>
 <302> E2F
 <310> M96577

 65 <400> 125
 atggcccttgg ccggggcccc tgcggggcggc ccatgcgcgc cggcgctgga ggccctgctc 60
 ggggcccggcg cgctgcggct gctcgactcc tcgcagatcg tcatcatctc cgccgcgcag 120

```

gacgccagcg ccccgccggc tcccaccggc cccgcggcgc ccgccgccgg cccctgcgac 180
cctgacctgc tgcctcttcg cacaccgcag gcgccccggc ccacaccag tgcgccgcgg 240
cccgcgctcg gccgcccggc ggtgaagcgg aggctggacc tggaaactga ccatcagtac 300
ctggccgaga gcagtgggccc agctcggggc agaggccgcc atccaggaaa aggtgtgaaa 360
5 tccccggggg agaagtcacg ctatgagacc tctactgaatc tgaccacca ggccttcctg 420
gagctgctga gccactcggc tgacgggtgc gtcgacctga actgggctgc cgagggtgctg 480
aagggtgcaga agcggcgcat ctatgacatc accaacgtcc ttgagggcat ccagctcatt 540
gccaagaagt ccaagaacca catccagtgg ctgggcagcc acaccacagt gggcgctcggc 600
ggacggcttg aggggttgac ccaggacctc cgacagctgc aggagagcga gcagcagctg 660
10 gaccacctga tgaatatctg tactacgcag ctgcccctgc tctccgagga cactgacagc 720
cagcgccctgg cctacgtgac gtgtcaggac cttcgtagca ttgcagacct tgcagagcag 780
atggttatgg tgatcaaaag ccctcctgag acccagctcc aagccgtgga ctcttcggag 840
aactttcaga tctcccttaa gagcaaacaa ggcccgatcg atgttttctt gtgccctgag 900
gagaccgtag gtgggatcag ccctgggaag accccatccc aggaggtcac ttctgaggag 960
15 gagaacaggg cactgactc tgccaccata gtgtcaccac caccatcatc tccccctca 1020
tccctcacca cagatcccag ccagtctcta ctcagcctgg agcaagaacc gctgttgtcc 1080
cggatgggca gcctgcgggc tcccgtaggac gaggaccgcc tgtccccgtt ggtggcgccc 1140
gactcgctcc tggagcatgt gcgggaggac ttctccggcc tcctccctga ggagttcatc 1200
agcctttccc caccacacga ggccctcgac taccacttcg gcctcgagga gggcgagggc 1260
20 atcagagacc tcttcgactg tgactttggg gacctcacc cctggattt ctga 1314

```

```

<210> 126
<211> 166
25 <212> DNA
    <213> Human papillomavirus

```

```

<300>
<302> EBER-1
30 <310> Jo2078

```

```

<400> 126
ggacctacgc tgccttagag gttttgctag ggaggagacg tgtgtggctg tagccaccgc 60
tcccgggtac aagtcccggg tggtagggac ggtgtctgtg gttgtcttcc cagactctgc 120
35 tttctgccgt cttcgggtcaa gtaccagctg gtggtccgca tgtttt 166

```

```

<210> 127
<211> 172
40 <212> DNA
    <213> Hepatitis C virus

```

```

<300>
<302> EBER-2
45 <310> J02078

```

```

<400> 127
ggacagccgt tgcctagtgc gtttcggaca caccgccaac gctcagtgcg gtgctaccga 60
cccgaggtca agtcccgggg gaggagaaga gaggcttccc gcctagagca tttgcaagtc 120
50 aggattctct aatccctctg ggagaagggt attcggcttg tccgctattt tt 172

```

```

<210> 128
<211> 651
55 <212> DNA
    <213> Hepatitis C virus

```

```

<300>
<302> NS2
60 <310> AJ238799

```

```

<400> 128

```

```

5   atggaccggg agatggcagc atcgtgcgga ggcgcgggtt tcgtaggtct gatactcttg 60
    accttgtcac cgcactataa gctgttcctc gctaggctca tatggtggtt acaatatatt 120
    atcaccaggg ccgaggcaca cttgcaagtg tggatcccc ccctcaacgt tcggggggggc 180
    cgcgatgccg tcatcctcct cacgtgcgcg atccacccag agctaattct taccatcacc 240
    aaaatcttgc tcgccatact cggtcactc atggtgctcc aggctgggtat aaccaaagtg 300
    ccgtacttcg tgcgcgcaca cggggtcatt cgtgcattgca tgctggtgcg gaagggtgct 360
    ggggggtcatt atgtccaaat ggctctcatg aagttggcgg cactgacagg tacgtacgtt 420
    tatgaccatc tcaccccaact gcgggactgg gccacgcgg gcctacgaga ccttgcggtg 480
    gcagttgagc ccgtcgtctt ctctgatatg gagaccaagg ttatcacctg gggggcagac 540
10  accgcggcgt gtggggacat catcttgggc ctgcccgtct ccgcccgcag ggggagggag 600
    atacatctgg gaccggcaga cagccttgaa gggcaggggt ggcgactcct c              651

    <210> 129
15  <211> 161
    <212> DNA
    <213> Hepatitis C virus

    <300>
20  <302> NS4A
    <310> AJ238799

    <400> 129
25  gcacctgggt gctggtaggc ggagtcctag cagctctggc cgcgtattgc ctgacaacag 60
    gcagcgtggt cattgtgggc aggatcatct tgtccggaaa gccggccatc attcccagaca 120
    ggaagtcctt ttaccgggag ttcgatgaga tggaagagtg c              161

    <210> 130
30  <211> 783
    <212> DNA
    <213> Hepatitis C virus

    <300>
35  <302> NS4B
    <310> AJ238799

    <400> 130
40  gcctcacacc tcccttacat cgaacagggg atgcagctcg ccgaacaatt caaacagaag 60
    gcaatcgggt tgctgcaaac agccaccaag caagcggagg ctgctgctcc cgtggtggaa 120
    tccaagtggc ggaccctcga agccttcttg gcgaagcata tgtggaattt catcagcggg 180
    atacaatatt tagcaggctt gtccactctg cctggcaacc ccgcgatagc atcactgatg 240
    gcattcacag cctctatcac cagcccgtct accacccaac ataccctcct gtttaacatc 300
    ctgggggggat gggtggccgc ccaacttgct cctcccagcg ctgcttctgc ttctgtaggc 360
45  gccggcatcg ctggagcggc tgttggcagc ataggccttg ggaagggtgct tgtggatatt 420
    ttggcagggt atggagcagg ggtggcaggc gcgctcgtgg cctttaagggt catgagcggc 480
    gagatgccct ccaccgagga cctggttaac ctactccctg ctatcctctc ccctggcgcc 540
    ctagtcgtcg gggtcgtgtg cgcagcgata ctgcgtcggc acgtggggccc aggggagggg 600
    gctgtgcagt ggatgaaccg gctgatagcg ttcgcttcgc ggggtaacca cgtctcccc 660
50  acgcactatg tgccctgagag cgacgctgca gcacgtgtca ctcagatcct ctctagtctt 720
    accatcactc agctgctgaa gaggcttcac cagtggatca acgaggactg ctccacgcc 780
    tgc              783

    <210> 131
55  <211> 1341
    <212> DNA
    <213> Hepatitis C virus

    <300>
60  <302> NS5A
    <310> AJ238799

```

<400> 131
 tccggctcgt ggctaagaga tgtttgggat tggatatgca cgggtgtgac tgatttcaag 60
 acctggctcc agtccaagct cctgcccga ttgcccggag tccccctctt ctcattgtcaa 120
 5 cgtgggtaca agggagtctg gcgggcgac ggcacatgc aaaccacctg cccatgtgga 180
 gcacagatca ccggacatgt gaaaaacggt tccatgagga tcgtggggcc taggacctgt 240
 agtaacacgt ggcatggaac attccccatt aacgcgtaca ccacggggccc ctgcacgccc 300
 tccccggcgc caaattattc tagggcgctg tggcgggtgg ctgctgagga gtacgtggag 360
 gttacgcggg tgggggattt ccactacgtg acgggcatga ccactgacaa cgtaaagtgc 420
 10 ccgtgtcagg ttccggcccc cgaattcttc acagaagtgg atggggtgcg gttgcacagg 480
 tacgctccag cgtgcaaacc cctcctacgg gaggaggtca cattcctggt cgggctcaat 540
 caataacctg ttgggtcaca gctcccatgc gagcccgaac cggacgtagc agtgctcact 600
 tccatgctca ccgacccctc ccacattacg gcggagacgg ctaagcgtag gctggccagg 660
 ggatctcccc cctccttggc cagctcatca gctagccagc tgtctgcgcc ttccttgaag 720
 15 gcaacatgca ctaccggtca tgactccccg gacgtgacc tcacgaggc caacctcctg 780
 tggcggcagg agatgggcgg gaacatcacc cgcgtggagt cagaaaataa ggtagtaatt 840
 ttggactctt tcgagccgct ccaagcggag gaggatgaga gggaaagtac cgttccggcg 900
 gagatcctgc ggaggtccag gaaattccct cgagcgatgc ccatatgggc acgcccggat 960
 tacaaccctc cactgttaga gtccctggaag gacccggact acgtccctcc agtggtacac 1020
 20 ggggtgtccat tgccgcctgc caaggccctt ccgataccac ctccacggag gaagaggacg 1080
 gttgtcctgt cagaatctac cgtgtcttct gccttggcgg agctcgccac aaagaccttc 1140
 ggcagctccg aatcgtcggc cgtcgacagc ggcacggcaa cggcctctcc tgaccagccc 1200
 tccgacgacg gcgacgcggg atccgacgtt gagtcgtact cctccatgcc ccccttgag 1260
 25 ggggagccgg gggatcccga tctcagcgac ggggtcttgg ctaccgtaag cgaggaggct 1320
 agtgaggacg tcgtctgctg c 1341

<210> 132
 <211> 1772
 30 <212> DNA
 <213> Hepatitis C virus

<300>
 <302> NS5B
 35 <310> AJ238799

<400> 132
 tcgatgtcct acacatggac aggcgccttg atcacgccat gcgctgcgga ggaaaccaag 60
 ctgcccataca atgactgag caactctttg ctccgtcacc acaacttggg ctatgtctaca 120
 40 acatctcgca gcgcaagcct gcggcagaag aaggtcacct ttgacagact gcaggctctg 180
 gacgaccact accgggacgt gctcaaggag atgaaggcga aggcgtccac agttaaggct 240
 aaacttctat ccgtggagga agcctgtaag ctgacgcccc cacattcggc cagatctaaa 300
 tttggctatg gggcaaagga cgtccggaac ctatccagca aggcgttaa ccacatccgc 360
 tccgtgtgga aggacttgct ggaagacact gagacaccaa ttgacaccac catcatggca 420
 45 aaaaatgagg ttttctgcgt ccaaccagag aagggggggc gcaagccagc tcgccttatc 480
 gtattcccag atttgggggt tcgtgtgtgc gagaaaatgg ccctttacga tgtggtctcc 540
 accctccctc aggcctgat gggctcttca tacggattcc aatactctcc tggacagcgg 600
 gtcgagttcc tgggtgaatgc ctggaaagcg aagaaatgcc ctatgggctt cgcatatgac 660
 acccgctggt ttgactcaac ggtcactgag aatgacatcc gtgttgagga gtcaatctac 720
 50 caatgttggtg acttggcccc cgaagccaga caggccataa ggtcgctcac agagcggctt 780
 tacatcgggg gcccccgtac taattctaaa gggcagaact ggggtatcg ccggtgcgc 840
 gcgagcgggt tactgacgac cagctgcggg aataccctca catgttactt gaaggccgct 900
 gcggcctgtc gagctgcgaa gctccaggac tgcacgatgc tcgtatgcgg agacgacctt 960
 gtcgttatct gtgaaagcgc ggggacccaa gaggacgagg cgagcctacg ggccttcacg 1020
 55 gaggctatga ctagatactc tgccccctt ggggacccgc ccaaaccaga atacgacttg 1080
 gatttgataa catcatgtc ctccaatgtg tccgtcgcg acgatgcac tggcaaaagg 1140
 gtgtactatc tcacccgtga cccaccacc cccttgcgc gggctgcgtg ggagcagct 1200
 agacacactc cagtcaattc ctggctaggc aacatcatca tgtatgcgcc caccttgttg 1260
 gcaaggatga tcctgatgac tcatttcttc tccatccttc tagctcagga acaacttgaa 1320
 60 aaagccctag attgtcagat ctacggggcc tgttactcca ttgagccact tgacctacct 1380
 cagatcattc aacgactcca tggccttagc gcattttcac tccatagtta ctctcagg 1440
 gagatcaata ggggtggctt atgcctcagg aaacttgggg taccgcctt gcgagtctgg 1500

agacatcggg ccagaagtgt ccgcgctagg ctactgtccc aggggggggag ggctgccact 1560
 tgtgggcaagt acctcttcaa ctgggcagta aggaccaagc tcaaaactcac tccaatccccg 1620
 gctgcgtccc agttggattt atccagctgg ttcggttctg gttacagcgg gggagacata 1680
 tatcacagcc tgtctcgtgc ccgaccccgc tggttcatgt ggtgcctact cctactttct 1740
 5 gtaggggtag gcatctatct actccccaac cg 1772

<210> 133
 <211> 1892
 10 <212> DNA
 <213> Hepatitis C virus

<300>
 <302> NS3
 15 <310> AJ238799

<400> 133
 cgcctattac ggcctactcc caacagacgc gaggcctact tggctgcac atcactagcc 60
 tcacaggccg ggacaggaac caggtcgagg gggaggtcca agtgggtctcc accgcaacac 120
 20 aatcttttctt ggcgacctgc gtcaatggcg tgtgttggac tgtctatcat ggtgccggct 180
 caaagaccct tgccggccca aagggcccaa tcacccaat gtacaccaat gtggaccagg 240
 acctcgtcgg ctggcaagcg cccccgggg cgcgttcctt gacaccatgc acctgcggca 300
 gctcggacct ttacttggtc acgaggcatg ccgatgtcat tccgggtgcgc cggcggggcg 360
 acagcagggg gagcctactc tccccaggc ccgtctccta cttgaagggc tcttcgggcg 420
 25 gtcactgct ctgcccctcg gggcacgctg tgggcatctt tccgggtgcc gtgtgcaccc 480
 gaggggttgc gaaggcgggtg gactttgtac ccgtcgagtc tatggaaacc actatgcggt 540
 ccccggtctt caccgacaac tcgtcccctc cggccgtacc gcagacattc caggtggccc 600
 atctacacgc ccctactggg agcggcaaga gactaaagg gccggctgcg tatgcagccc 660
 aagggtataa ggtgcttgct ctgaaccgt ccgtcgccgc caccctagggt ttcggggcgt 720
 30 atatgtctaa ggcacatggt atcgacccta acatcagaac cggggttaagg accatcacca 780
 cgggtgcccc catcacgtac tccacctatg gcaagtctt tgcgcagcgt ggttgctctg 840
 gggcgcccta tgacatcata atatgtgatg agtgccactc aactgactcg accactatcc 900
 tgggcatcgg cacagtctct gaccaagcgg agacggctgg agcgcgactc gtcgtgctcg 960
 ccaccgctac gcctccggga tcggtcaccg tgccacatcc aaacatcgag gaggtggctc 1020
 35 tgtccagcac tggagaaatc cccttttatg gcaaagccat ccccatcgag accatcaagg 1080
 gggggaggca cctcattttc tgccattcca agaagaaatg tgatgagctc gccgcgaagc 1140
 tgtccggcct cgactcaat gctgtagcat attaccgggg ccttgatgta tccgtcatac 1200
 caactagcgg agacgtcatt gtcgtagcaa cggacgctct aatgacgggc tttaccggcg 1260
 atttcgactc agtgatcgac tgcaatacat gtgtcaccca gacagtcgac ttcagcctgg 1320
 40 acccgacctt caccattgag acgacgaccg tgccacaaga cgcgggtgtca cgctcgcagc 1380
 ggcgaggcag gactggtagg ggcaggatgg gcatttacag gtttgtgact ccaggagaac 1440
 ggcctcgggg gacttctgat tcctcggtt tctgcgagtg ctatgacgcg ggtgtgctt 1500
 ggtacgagct cagccccgc gagacctcag ttaggttgcg ggcttaccta aacacaccag 1560
 ggttgcctgt ctgccaggac catctggagt tctgggagag cgtctttaca ggcctcacc 1620
 45 acatagacgc ccatttcttg tcccagacta agcaggcagg agacaacttc ccctacctgg 1680
 tagcatacca ggctacgggtg tgcgccaggg ctgaggtccc acctccatcg tgggaccaa 1740
 tgtggaagtg tctcatcagg ctaaaagcta cgctgcacgg gccaacgccc ctgctgtata 1800
 ggctggggagc cgttcaaaac gaggttacta ccacacccc cataaccaa 1860
 catgcatgtc ggctgacctg gaggtcgtca cg 1892

<210> 134
 <211> 822
 <212> DNA
 55 <213> Homo sapiens

<300>
 <302> stmn cell factor
 <310> M59964

60 <400> 134
 atgaagaaga cacaacttg gattctcact tgcatttacc ttcagctgct cctattta 60

```

cctctcgtca aaactgaagg gatctgcagg aatcgtgtga ctaataatgt aaaagacgtc 120
actaaattgg tggcaaatct tccaaaagac tacatgataa ccctcaaata tgtccccggg 180
atggatgttt tgccaagtca ttgttggata agcgagatgg tagtacaatt gtcagacagc 240
ttgactgata ttctggacaa gttttcfaat atttctgaag gcttgagtaa ttattccatc 300
5 atagacaaac ttgtgaatat agtcgatgac cttgtggagt gcgtcaaaga aaactcatct 360
aaggatctaa aaaaatcatt caagagccca gaaccagggc tctttactcc tgaagaattc 420
tttagaattt ttaatagatc cattgatgcc ttcaaggact ttgtagtggc atctgaaact 480
agtgattgtg tggtttcttc aacattaagt cctgagaaag attccagagt cagtgtcaca 540
aaaccattta tgttaccccc tgttgagacc agtcocctta ggaatgacag cagtagcagt 600
10 aataggaagg ccaaaaatcc ccctggagac tccagcctac actgggcagc catggcattg 660
ccagcattgt tttctcttat aattggcttt gcttttggag ccttatactg gaagaagaga 720
cagccaagtc ttacaagggc agttgaaaat atacaaatta atgaagagga taatgagata 780
agtatgttgc aagagaaaga gagagagttt caagaagtgt aa 822

15
<210> 135
<211> 483
<212> DNA
<213> Homo sapiens

20
<300>
<302> TGFalpha
<310> AF123238

25
<400> 135
atgggtccctt cggctggaca gctcgccctg ttctgctctgg gtattgtgtt ggctgcgtgc 60
caggccttgg agaacagcac gtccccgctg agtgcagacc cgcccggtggc tgcagcagtg 120
gtgtcccat ttaatgactg cccagattcc cacactcagt tctgcttcca tggaaacctg 180
aggttttttg tgcaggagga caagccagca tgtgtctgcc attctgggta cgttggtgca 240
30 cgctgtgagc atgcggacct cctggccgtg gtggctgcca gccagaagaa gcaggccatc 300
accgccttgg ttgtggtctc catcgctggc ctggctgtcc ttatcatcac atgtgtctcg 360
atacactgct gccaggtccg aaaacactgt gagtgggtgcc gggccctcat ctgccggcac 420
gagaagccca gcgccctcct gaagggaaga accgcttgct gccactcaga aacagtgggtc 480
tga 483

35
<210> 136
<211> 1071
<212> DNA
40 <213> Homo sapiens

<300>
<302> GD3 synthase
<310> NM003034

45
<400> 136
atgagccctt gcggggcgggc cgggcgacaa acgtccagag gggccatggc tgtactggcg 60
tggaaagtcc cgcggacccg gctgcccatt ggagccagtg ccctctgtgt cgtgggtctc 120
tgttggctct acatcttccc cgtctaccgg ctgcccacg agaaagagat cgtgcagggg 180
50 gtgctgcaac agggcacggc gtggaggagg aaccagaccg cggccagagc gttcaggaaa 240
caaatgggaag actgctgcca ccctgcccatt ctctttgcta tgactaaaat gaattcccct 300
atgggggaaga gcatgtggta tgacggggag tttttatact cattcaccat tgacaattca 360
acttactctc tcttcccaca ggcaacccca ttccagctgc cattgaagaa atgcgcggtg 420
gtgggaaatg gtgggattct gaagaagagt ggctgtggcc gtcaaataga tgaagcaaat 480
55 tttgtcatgc gatgcaatct cctccttttg tcaagtgaat acactaagga tgttggatcc 540
aaaagtgcagt tagtgacagc taatcccagc ataattcggc aaagggttca gaaccttctg 600
tgggtccagaa agacatttgt ggacaacatg aaaatctata accacagtta catctacatg 660
cctgcctttt ctatgaagac aggaacagag ccatctttga ggggtttatta tacactgtca 720
gatgttggtg ccaatcaaac agtgcgtgtt gccaaaccca actttctgcg tagcatttga 780
60 aagttctgga aaagttaggg aatccatgcc aagcgctgtt ccacaggact ttttctggtg 840
agcgagctc ttggctctctg tgaagaggtg gccatctatg gcttctggcc cttctctgtg 900
aatatgcatg agcagcccat cagccaccac tactatgaca acgtcttacc cttttctggc 960

```

ttccatgccca tgcccagagga atttctccaa ctctgggtatc ttcataaaat cgggtgcaactg 1020
 agaatgcagc tggaccccatg tgaagatacc tcaactccagc ccacttccta g 1071

5 <210> 137
 <211> 744
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

10 <300>
 <302> FGF14
 <310> NM004115

15 <400> 137
 atggcgcgcg ccacgcgctag cggcttgatc cgccagaagc ggcagggcgcg ggagcagcac 60
 tgggaccggc cgtctgccag caggaggcgg agcagcccca gcaagaaccg cgggctctgc 120
 aacggcaacc tgggtggatat cttctccaaa gtgcgcacatc tcggcctcaa gaagcgcagg 180
 ttgcggcgcc aagatcccca gctcaagggg atagtgacca ggttatattg caggcaaggc 240
 tactacttgc aaatgcaccc cgatggagct ctcgatggaa ccaaggatga cagcactaat 300
 20 tctacactct tcaacctcat accagtggga ctacgtgttg ttgccatcca gggagtgaag 360
 acaggggttg atatatccat gaatggagaa ggttacctct acccatcaga actttttacc 420
 cctgaatgca agtttaaga atctgttttt gaaaattatt atgtaatcta ctcatccatg 480
 ttgtacagac aacaggaatc tggtagagcc tggtttttgg gattaaataa ggaagggcaa 540
 gctatgaaag ggaacagagt aaagaaaacc aaaccagcag ctcattttct acccaagcca 600
 25 ttggaagtgt ccatgtaccg agaaccatct ttgcatgatg ttggggaaac ggtcccgaag 660
 cctgggggtga cgccaagtaa aagcacaaat gcgtctgcaa taatgaatgg agggcaaacca 720
 gtcaacaaga gtaagacaac atag 744

30 <210> 138
 <211> 1503
 <212> DNA
 <213> Human immunodeficiency virus

35 <300>
 <302> gag (HIV)
 <310> NC001802

40 <400> 138
 atgggtgcga gagcgtcagt attaagcggg ggagaattag atcgatggga aaaaattcgg 60
 ttaaggccag ggggaaagaa aaaatatata ttaaaacata tagtatgggc aagcaggag 120
 ctagaacgat tcgcagttaa tcttgccctg ttagaaacat cagaaggctg tagacaaata 180
 ctgggacagc tacaaccatc ccttcagaca ggatcagaag aacttagatc attatataat 240
 acagttagcaa ccctctattg tgtgcatcaa aggatagaga taaaagacac caaggaagct 300
 45 ttagacaaga tagaggaaga gcaaaacaaa agtaagaaaa aagcacagca agcagcagct 360
 gacacaggac acagcaatca ggtcagccaa aattacccta tagtgcagaa catccagggg 420
 caaatggtac atcaggccat atcacctaga actttaaatg catgggtaaa agtagtagaa 480
 gagaaggctt tcagcccaga agtgataccc atgttttcag cattatcaga aggagccacc 540
 ccacaagatt taaacaccat gctaaacaca gtggggggac atcaagcagc catgcaaatg 600
 50 ttaaaagaga ccatcaatga ggaagctgca gaatgggata gagtgcaccc agtgcagca 660
 gggcctattg caccagcca gatgagagaa ccaaggggaa gtgacatagc aggaactact 720
 agtacccttc aggaacaaat aggatggatg acaataatc cacctatccc agtaggagaa 780
 atttataaaa gatggataat cctgggatta aataaaatag taagaatgta tagccctacc 840
 agcattctgg acataagaca aggaccaaaag gaacccttta gagactatgt agaccggttc 900
 55 tataaaactc taagagccga gcaagcttca caggaggtaa aaaattggat gacagaaacc 960
 ttgttgggtcc aaaatgcgaa ccagattgt aagactattt taaaagcatt gggaccagcg 1020
 gctacactag aagaaatgat gacagcatgt caggggagtag gaggaccccg ccataaggca 1080
 agagtgttgg ctgaagcaat gagccaagta acaaattcag ctaccataat gatgcagaga 1140
 ggcaatttta ggaaccaaag aaagattgtt aagtgtttca attgtggcaa agaagggcac 1200
 60 acagccagaa attgcagggc ccctaggaaa aggggctgtt ggaaatgtgg aaaggaagca 1260
 caccaaatga aagattgtac tgagagacag gctaattttt tagggaagat ctggccttcc 1320
 tacaagggaa ggccagggaa ttttcttcag agcagaccag agccaacagc cccaccagaa 1380

```

gagagcttca ggtctggggt agagacaaca actccccctc agaagcagga gccgatagac 1440
aaggaactgt atcctttaac ttccctcagg tcactctttg gcaacgaccc ctcgtcacaa 1500
taa                                              1503

5
<210> 139
<211> 1101
<212> DNA
<213> Human immunodeficiency virus

10
<300>
<302> TARBP2
<310> NM004178

15
<400> 139
atgagtgaag aggagcaagg ctccggcact accacgggct gcgggctgcc tagtatagag 60
caaatgctgg ccgccaaccc aggcaagacc ccgatcagcc ttctgcagga gtatgggacc 120
agaatagggga agacgcctgt gtacgacctt ctcaaagccg agggccaagc ccaccagcct 180
aatttcacct tccgggtcac cgctggcgac accagctgca ctggtcaggg ccccagcaag 240
20
aaggcagcca agcacaaggc agctgaggtg gccctcaaac acctcaaagg ggggagcatg 300
ctggagccgg ccctggagga cagcagttct tttctctccc tagactcttc actgcctgag 360
gacattccgg tttttactgc tgcagcagct gctaccccag ttccatctgt agtcctaacc 420
aggagcccc ccatggaact gcagccccct gtctccccctc agcagtctga gtgcaacccc 480
gttggtgctc tgcaggagct ggtggtgtag aaaggctggc ggttgccgga gtacacagtg 540
25
acccaggagt ctggggcagc ccaccgcaaa gaattcacca tgacctgtcg agtggagcgt 600
ttcattgaga ttgggagtgg cacttccaaa aaattggcaa agcggaatgc ggcggccaaa 660
atgctgcttc gagtgcacac ggtgcctctg gatgcccggg atggcaatga ggtggagcct 720
gatgatgacc acttctccat tgggtggtggc ttccgcctgg atggtcttcg aaaccggggc 780
ccagggttgca cctgggattc tctacgaaat tcagtaggag agaagatcct gtccctccgc 840
30
agttgctccc tgggctccct ggggtgccctg ggcctgcctg gctgccgtgt cctcagttag 900
ctctctgagg agcaggcctt tcacgtcagc tacctggata ttgaggagct gagcctgagt 960
ggactctgcc agtgccctgg ggaactgtcc acccagccgg ccactgtgtg tcatggctct 1020
gcaaccacca gggaggcagc ccgtggtgag gctgcccgcg gtgccctgca gtacctcaag 1080
atcatggcag gcagcaagtg a                                              1101

35

<210> 140
<211> 219
<212> DNA
40
<213> Human immunodeficiency virus

<300>
<302> TAT (HIV)
<310> U44023

45
<400> 140
atggagccag tagatcctag cctagagccc tggaagcacc caggaagtca gcctaagact 60
gcttgtagca cttgctattg taaagagtgt tgctttcatt gccaaagttt tttcataaca 120
aaaggcttag gcatctccta tggcaggaag aagcggagac agcgacgaag aactcctcaa 180
50
ggtcatcaga ctaatcaagt ttctctatca aagcagtaa                                              219

<210> 141
<211> 22
<212> RNA
55
<213> Künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Sense-Strang
60
(R1A) einer dsRNA, die homolog zur MDR-1-Sequenz
ist

```

<400> 141
ccaucucgaa aagaaguuaa ga 22

5 <210> 142
<211> 24
<212> RNA
<213> Künstliche Sequenz

10 <220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:
antisense-Strang (R1B) einer dsRNA, die
komplementär zur MDR-1-Sequenz ist

15 <400> 142
ucuaaacuuc uuuucgagau ggg 24

20 <210> 143
<211> 22
<212> RNA
<213> Künstliche Sequenz

25 <220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: sense-Strang
(R2A) einer dsRNA, die homolog zur MDR-1- Sequenz
ist

30 <400> 143
uauagguucc aggcugcug ua 22

35 <210> 144
<211> 22
<212> RNA
<213> Künstliche Sequenz

40 <220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: sense-Strang
(R3A) einer dsRNA, die homolog zur Sequenz des MDR
1-Gens ist

45 <400> 144
ccagagaagg ccgcaccugc au 22

50 <210> 145
<211> 24
<212> RNA
<213> Künstliche Sequenz

55 <220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:
antisense-Strang (R3B) einer dsRNA, die
komplementär zur MDR-1-Sequenz ist

60 <400> 145
augcaggugc ggccuucucu ggc 24

<210> 146
<211> 21

<212> RNA
 <213> Künstliche Sequenz

5 <220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: sense-Strang
 (R4A) einer dsRNA, die homolog zur MDR-1-Sequenz
 ist

10 <400> 146
 ccaucucgaa aagaaguuaa g 21

15 <210> 147
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Künstliche Sequenz

20 <220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:
 antisense-Strang (R4B) einer dsRNA, die
 komplementär zur MDR-1-Sequenz ist

25 <400> 147
 uaacuucuuu ucgagauggg u 21

30 <210> 148
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Künstliche Sequenz

35 <220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: sense-Strang
 (S1A) einer dsRNA, die homolog zur YFP- bzw.
 GFP-Sequenz ist

40 <400> 148
 ccacaugaag cagcacgacu uc 22

45 <210> 149
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Künstliche Sequenz

50 <220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:
 antisense-Strang (S1B) einer dsRNA, die
 komplementär zur YFP- bzw. GFP-Sequenz ist

55 <400> 149
 gaagucgugc ugcuucaugu gg 22

60 <210> 150
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Künstliche Sequenz

<220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:
 antisense-Strang (S7A) einer dsRNA, die homolog

zur YFP- bzw. GFP-Sequenz ist

	<400> 150	
5	ccacaugaag cagcacgacu u	21
	<210> 151	
	<211> 21	
	<212> RNA	
10	<213> Künstliche Sequenz	
	<220>	
	<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:	
	antisense-Strang (S7B) einer dsRNA, die	
15	komplementär zur YFP- bzw. GFP-Sequenz ist	
	<400> 151	
	gucgugcugc uucauguggu c	21
20	<210> 152	
	<211> 24	
	<212> RNA	
	<213> Künstliche Sequenz	
25	<220>	
	<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:	
	antisense-Strang (R2B) einer dsRNA, die	
	komplementär zur MDR-1-Sequenz ist	
30	<400> 152	
	uacagcaagc cuggaaccua uagc	24
35	<210> 153	
	<211> 22	
	<212> RNA	
	<213> Künstliche Sequenz	
40	<220>	
	<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: sense-Strang	
	(K1A) einer dsRNA, die homolog zur 5'-UTR der	
	Neomycin-Sequenz ist	
45	<400> 153	
	acaggaugag gaucguuucg ca	22
50	<210> 154	
	<211> 22	
	<212> RNA	
	<213> Künstliche Sequenz	
	<220>	
55	<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:	
	antisense-Strang (K1B) einer dsRNA, die	
	komplementär zur 5'-UTR der Neomycin-Sequenz ist	
	<400> 154	
60	ugcgaaacga uccucauccu gu	22

5 <210> 155
<211> 21
<212> RNA
<213> Künstliche Sequenz

10 <220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: sense-Strang
(K3A) einer dsRNA, die homolog zur 5'-UTR der
Neomycin-Sequenz ist

15 <400> 155
gaugaggauc guuucgcaug a 21

20 <210> 156
<211> 21
<212> RNA
<213> Künstliche Sequenz

25 <220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:
antisense-Strang (K3B) einer dsRNA, die
komplementär zur 5'-UTR der Neomycin-Sequenz ist

30 <400> 156
augcgaaacg auccucaucc u 21

35 <210> 157
<211> 24
<212> RNA
<213> Künstliche Sequenz

40 <220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: sense-Strang
(K2A) einer dsRNA, die homolog zur 5'-UTR der
Neomycin-Sequenz ist

45 <400> 157
acaggaugag gaucguuucg caug 24

50 <210> 158
<211> 24
<212> RNA
<213> Künstliche Sequenz

55 <220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:
antisense-Strang (K2B) einer dsRNA, die
komplementär zur 5'-UTR der Neomycin-Sequenz ist

60 <400> 158
ugcgaaacga uccucauccu gucu 24

<210> 159
<211> 24
<212> RNA
<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:
 antisense-Strang (S4B) einer dsRNA, die
 komplementär zur YFP-bzw. GFP-Sequenz ist

5 <400> 159
 gaagucgugc ugcucaugu gguc 24

10 <210> 160
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Künstliche Sequenz

15 <220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: sense-Strang
 (PKC1 A) einer dsRNA, die homolog zur
 Proteinkinase C-Sequenz ist

20 <400> 160
 cuucuccgcc ucacaccgc gcaa 24

 <210> 161
 <211> 22
 25 <212> RNA
 <213> Künstliche Sequenz

 <220>
 30 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:
 antisense-Strang (PKC2 B) einer dsRNA, die
 komplementär zur Proteinkinase C-Sequenz ist

 <400> 161
 35 gcagcggugu gaggcggaga ag 22

 <210> 162
 <211> 21
 <212> RNA
 40 <213> Künstliche Sequenz

 <220>
 45 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:
 antisense-Strang (S12B) einer dsRNA, die
 komplementär zur YFP- bzw. GFP-Sequenz ist

 <400> 162
 aagucgugcu gcucaugug g 21

50 <210> 163
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Künstliche Sequenz

55 <220>
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:
 antisense-Strang (S11B) einer dsRNA, die
 komplementär zur YFP- bzw. GFP-Sequenz ist

60 <400> 163
 aagucgugcu gcucaugug guc 23

```

5      <210> 164
      <211> 20
      <212> RNA
      <213> Künstliche Sequenz

      <220>
      <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: sense-Strang
10      (S13A) einer dsRNA, die homolog zur YFP- bzw.
      GFP-Sequenz ist

      <400> 164
15      ccacaugaag cagcacgacu 20

      <210> 165
      <211> 22
      <212> RNA
20      <213> Künstliche Sequenz

      <220>
      <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:
25      antisense-Strang (S13B) einer dsRNA, die
      komplementär zur YFP- bzw. GFP-Sequenz ist

      <400> 165
      agucgugcug cuucaugugg uc 22

30      <210> 166
      <211> 20
      <212> RNA
      <213> Künstliche Sequenz

35      <220>
      <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:
      antisense-Strang (S14B) einer dsRNA, die
40      komplementär zur YFP- bzw. GFP-Sequenz ist

      <400> 166
      agucgugcug cuucaugugg 20
      ,

45      <210> 167
      <211> 24
      <212> RNA
      <213> Künstliche Sequenz

50      <220>
      <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: sense-Strang
      (S4A) einer dsRNA, die homolog zur YFP- bzw.
      GFP-Sequenz ist

55      <400> 167
      ccacaugaag cagcacgacu ucuu 24

      <210> 168
60      <211> 21
      <212> RNA
      <213> Künstliche Sequenz

```

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: sense-Strang
(ES-7A) einer dsRNA, die homolog zur humanen
5 EGFR-Sequenz ist

<400> 168
aacaccgcag caugucaaga u 21

10 <210> 169
<211> 21
<212> RNA
<213> Künstliche Sequenz

15 <220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:
antisense-Strang (ES-7B) einer dsRNA, die
komplementär zur humanen EGFR-Sequenz ist

20 <400> 169
cuugacaugc ugcgguguuu u 21

25 <210> 170
<211> 22
<212> RNA
<213> Künstliche Sequenz

30 <220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: sense-Strang
(ES-8A) einer dsRNA, die homolog zur humanen
EGFR-Sequenz ist

35 <400> 170
aaguuaaaau ucccguccgu au 22

40 <210> 171
<211> 22
<212> RNA
<213> Künstliche Sequenz

45 <220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:
antisense-Strang (ES-8B) einer dsRNA, die
komplementär zur humanen EGFR-Sequenz ist

50 <400> 171
ugauagcgcac gggaaauuuu ac 22

55 <210> 172
<211> 22
<212> RNA
<213> Künstliche Sequenz

60 <220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: sense-Strang
(ES-2A) einer dsRNA, die homolog zur humanen
EGFR-Sequenz ist

<400> 172
agugugaucc aagcuguccc aa 22

5 <210> 173
<211> 24
<212> RNA
<213> Künstliche Sequenz

10 <220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:
antisense-Strang (ES-5B) einer dsRNA, die
komplementär zur humanen EGFR-Sequenz ist

15 <400> 173
uugggacagc uuggaucaca cuuu 24

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
18. Juli 2002 (18.07.2002)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 02/055693 A3

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: C12N 15/11,
A61K 31/713, C12N 15/88, A61P 35/00

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP02/00152

(22) Internationales Anmeldedatum:
9. Januar 2002 (09.01.2002)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
101 00 586.5 9. Januar 2001 (09.01.2001) DE
101 55 280.7 26. Oktober 2001 (26.10.2001) DE
101 58 411.3 29. November 2001 (29.11.2001) DE
101 60 151.4 7. Dezember 2001 (07.12.2001) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von
US): RIBOPHARMA AG [DE/DE]; Universitätsstrasse
30, 95447 Bayreuth (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): KREUTZER, Roland

[DE/DE]; Universitätsstrasse 30, 95447 Bayreuth (DE).
LIMMER, Stephan [DE/DE]; Universitätsstrasse 30,
95447 Bayreuth (DE). ROST, Sylvia [DE/DE]; Univer-
sitätsstrasse 30, 95447 Bayreuth (DE). HADWIGER,
Philipp [DE/DE]; Universitätsstrasse 30, 95447 Bayreuth
(DE).

(74) Anwalt: GASSNER, Wolfgang; Nägelsbachstrasse 49a,
91052 Erlangen (DE).

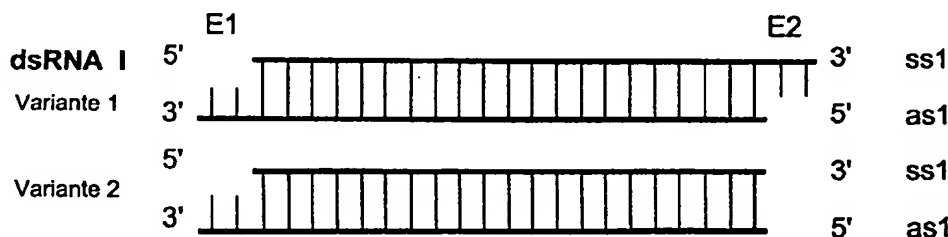
(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR,
CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE,
GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR,
KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK,
MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU,
SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG,
US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SI, SZ, TZ, UG, ZM, ZW),
eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,
TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK,
ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR),

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: METHOD FOR INHIBITING THE EXPRESSION OF A TARGET GENE

(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUR HEMMUNG DER EXPRESSION EINES ZIELGENS



(57) Abstract: The invention relates to a method for inhibiting the expression of a target gene in a cell, comprising the following steps: introduction of an amount of at least one dual-stranded ribonucleic acid (dsRNA I) which is sufficient to inhibit the expression of the target gene. The dsRNA I has a dual-stranded structure formed by a maximum of 49 successive nucleotide pairs. One strand (as1) or at least one section of the one strand (as1) of the dual-stranded structure is complementary to the sense strand of the target gene. The dsRNA has an overhang on the end (E1) of dsRNA I formed by 1 - 4 nucleotides.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Hemmung der Expression eines Zielgens in einer Zelle umfassend die folgenden Schritte: Einführen mindestens einer doppelsträngigen Ribonukleinsäure (dsRNA I) in einer zur Hemmung der Expression des Zielgens ausreichenden Menge, wobei die dsRNA I eine doppelsträngige aus höchstens 49 aufeinanderfolgenden Nukleotidpaaren gebildete Struktur aufweist, und wobei ein Strang (as1) oder zumindest ein Abschnitt des einen Strangs (as1) der doppelsträngigen Struktur komplementär zum Sinn-Strang des Zielgens ist, und wobei die dsRNA am einen Ende (E1) der dsRNA I einen aus 1 bis 4 Nukleotiden gebildeten überhang aufweist.

WO 02/055693 A3



OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht

(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen

Recherchenberichts:

17. Juli 2003

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/EP 02/00152

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C12N15/11 A61K31/713 C12N15/88 A61P35/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C12N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, PAJ, MEDLINE, BIOSIS, EMBASE, CHEM ABS Data, SEQUENCE SEARCH

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 00 44895 A (KREUTZER ROLAND ;LIMMER STEPHAN (DE)) 3 August 2000 (2000-08-03) the whole document ---	1-240
Y	WO 98 05770 A (ROTHBARTH KARSTEN ;JOSWIG GABY (DE); WERNER DIETER (DE); SCHUBERT) 12 February 1998 (1998-02-12) the whole document ---	1-240
Y	WO 99 32619 A (CARNEGIE INST OF WASHINGTON ;MONTGOMERY MARY K (US); FIRE ANDREW () 1 July 1999 (1999-07-01) the whole document ---	1-240
Y	WO 00 44914 A (FARRELL MICHAEL J ;LI YIN XIONG (US); KIRBY MARGARET L (US); MEDIC) 3 August 2000 (2000-08-03) the whole document --- -/--	1-240

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *Z* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

7 January 2003

Date of mailing of the international search report

27/01/2003

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Armandola, E

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 02/00152

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	ZAMORE PHILLIP D ET AL: "RNAi: Double-stranded RNA directs the ATP-dependent cleavage of mRNA at 21 to 23 nucleotide intervals" CELL, CELL PRESS, CAMBRIDGE, MA, US, vol. 101, no. 1, 31 March 2000 (2000-03-31), pages 25-33, XP002208683 ISSN: 0092-8674 the whole document ---	1-240
Y	BASS BRENDA L: "Double-stranded RNA as a template for gene silencing" CELL, CELL PRESS, CAMBRIDGE, MA, US, vol. 101, no. 3, 28 April 2000 (2000-04-28), pages 235-238, XP002194756 ISSN: 0092-8674 figure 1 ---	1-240
Y	UHLMANN E ET AL: "ANTISENSE OLIGONUCLEOTIDES: A NEW THERAPEUTIC PRINCIPLE" CHEMICAL REVIEWS, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, EASTON, US, vol. 90, no. 4, 1 June 1990 (1990-06-01), pages 543-584, XP000141412 ISSN: 0009-2665 the whole document ---	20-30, 60-70, 99-109, 140-150, 180-190, 219-229
Y	PARRISH S., FLEENOR J., ET AL.: "Functional Anatomy of a dsRNA trigger: differential requirement for the two trigger strands in RNA interference." MOL. CELL, vol. 6, November 2000 (2000-11), pages 1077-187, XP002226361 the whole document ---	1-240
Y,P	AMBROS VICTOR: "Dicing up RNAs" SCIENCE, AMERICAN ASSOCIATION FOR THE ADVANCEMENT OF SCIENCE,, US, vol. 293, no. 5531, 3 August 2001 (2001-08-03), pages 811-813, XP002183122 ISSN: 0036-8075 the whole document ---	1-240

-/--

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 02/00152

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y, P	ELBASHIR SAYDA M ET AL: "RNA interference is mediated by 21- and 22-nucleotide RNAs" GENES AND DEVELOPMENT, COLD SPRING HARBOR LABORATORY PRESS, NEW YORK, US, vol. 15, no. 2, 15 January 2001 (2001-01-15), pages 188-200, XP002204651 ISSN: 0890-9369 the whole document	1-240
A	WO 94 01550 A (AGRAWAL SUDHIR ;HYBRIDON INC (US); TANG JIN YAN (US)) 20 January 1994 (1994-01-20)	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 02/00152

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 0044895	A	03-08-2000	DE 19956568 A1	17-08-2000
			AT 222953 T	15-09-2002
			AU 3271300 A	18-08-2000
			WO 0044895 A1	03-08-2000
			DE 10080167 D2	28-02-2002
			DE 50000414 D1	02-10-2002
			EP 1144623 A1	17-10-2001
			EP 1214945 A2	19-06-2002
WO 9805770	A	12-02-1998	DE 19631919 A1	12-02-1998
			WO 9805770 A2	12-02-1998
			EP 0918853 A2	02-06-1999
WO 9932619	A	01-07-1999	AU 743798 B2	07-02-2002
			AU 1938099 A	12-07-1999
			CA 2311999 A1	01-07-1999
			EP 1042462 A1	11-10-2000
			JP 2002516062 T	04-06-2002
			WO 9932619 A1	01-07-1999
WO 0044914	A	03-08-2000	AU 2634800 A	18-08-2000
			EP 1147204 A1	24-10-2001
			WO 0044914 A1	03-08-2000
			US 2002114784 A1	22-08-2002
WO 9401550	A	20-01-1994	AT 171210 T	15-10-1998
			AU 4770093 A	31-01-1994
			CA 2139319 A1	20-01-1994
			CZ 9403332 A3	12-07-1995
			DE 69321122 D1	22-10-1998
			EP 0649467 A1	26-04-1995
			FI 946201 A	30-12-1994
			HU 69981 A2	28-09-1995
			JP 8501928 T	05-03-1996
			NO 945020 A	28-02-1995
			NZ 255028 A	24-03-1997
			PL 307025 A1	02-05-1995
			WO 9401550 A1	20-01-1994

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 02/00152

A. KLASSTIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 C12N15/11 A61K31/713 C12N15/88 A61P35/00

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 C12N

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, PAJ, MEDLINE, BIOSIS, EMBASE, CHEM ABS Data, SEQUENCE SEARCH

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 00 44895 A (KREUTZER ROLAND ;LIMMER STEPHAN (DE)) 3. August 2000 (2000-08-03) das ganze Dokument	1-240
Y	WO 98 05770 A (ROTHBARTH KARSTEN ;JOSWIG GABY (DE); WERNER DIETER (DE); SCHUBERT) 12. Februar 1998 (1998-02-12) das ganze Dokument	1-240
Y	WO 99 32619 A (CARNEGIE INST OF WASHINGTON ;MONTGOMERY MARY K (US); FIRE ANDREW ()) 1. Juli 1999 (1999-07-01) das ganze Dokument	1-240
Y	WO 00 44914 A (FARRELL MICHAEL J ;LI YIN XIONG (US); KIRBY MARGARET L (US); MEDIC) 3. August 2000 (2000-08-03) das ganze Dokument	1-240

-/-

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

A Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

E älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

L Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

O Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

P Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

Z Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

7. Januar 2003

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

27/01/2003

Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Armandola, E

C(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Beitr. Anspruch Nr.
Y	ZAMORE PHILLIP D ET AL: "RNAi: Double-stranded RNA directs the ATP-dependent cleavage of mRNA at 21 to 23 nucleotide intervals" CELL, CELL PRESS, CAMBRIDGE, NA, US, Bd. 101, Nr. 1, 31. März 2000 (2000-03-31), Seiten 25-33, XP002208683 ISSN: 0092-8674 das ganze Dokument ---	1-240
Y	BASS BRENDA L: "Double-stranded RNA as a template for gene silencing" CELL, CELL PRESS, CAMBRIDGE, NA, US, Bd. 101, Nr. 3, 28. April 2000 (2000-04-28), Seiten 235-238, XP002194756 ISSN: 0092-8674 Abbildung 1 ---	1-240
Y	UHLMANN E ET AL: "ANTISENSE OLIGONUCLEOTIDES: A NEW THERAPEUTIC PRINCIPLE" CHEMICAL REVIEWS, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY. EASTON, US, Bd. 90, Nr. 4, 1. Juni 1990 (1990-06-01), Seiten 543-584, XP000141412 ISSN: 0009-2665 das ganze Dokument ---	20-30, 60-70, 99-109, 140-150, 180-190, 219-229
Y	PARRISH S., FLEENOR J., ET AL.: "Functional Anatomy of a dsRNA trigger: differential requirement for the two trigger strands in RNA interference." MOL. CELL, Bd. 6, November 2000 (2000-11), Seiten 1077-187, XP002226361 das ganze Dokument ---	1-240
Y,P	AMBROS VICTOR: "Dicing up RNAs" SCIENCE, AMERICAN ASSOCIATION FOR THE ADVANCEMENT OF SCIENCE,, US, Bd. 293, Nr. 5531, 3. August 2001 (2001-08-03), Seiten 811-813, XP002183122 ISSN: 0036-8075 das ganze Dokument ---	1-240

-/--

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internat. Aktenzeichen
PCT/EP 02/00152

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y,P	ELBASHIR SAYDA M ET AL: "RNA interference is mediated by 21- and 22-nucleotide RNAs" GENES AND DEVELOPMENT, COLD SPRING HARBOR LABORATORY PRESS, NEW YORK, US, Bd. 15, Nr. 2, 15. Januar 2001 (2001-01-15), Seiten 188-200, XP002204651 ISSN: 0890-9369 das ganze Dokument	1-240
A	WO 94 01550 A (AGRAWAL SUDHIR ;HYBRIDON INC (US); TANG JIN YAN (US)) 20. Januar 1994 (1994-01-20)	

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 02/00152

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 0044895	A	03-08-2000	DE 19956568 A1	17-08-2000
			AT 222953 T	15-09-2002
			AU 3271300 A	18-08-2000
			WO 0044895 A1	03-08-2000
			DE 10080167 D2	28-02-2002
			DE 50000414 D1	02-10-2002
			EP 1144623 A1	17-10-2001
			EP 1214945 A2	19-06-2002
WO 9805770	A	12-02-1998	DE 19631919 A1	12-02-1998
			WO 9805770 A2	12-02-1998
			EP 0918853 A2	02-06-1999
WO 9932619	A	01-07-1999	AU 743798 B2	07-02-2002
			AU 1938099 A	12-07-1999
			CA 2311999 A1	01-07-1999
			EP 1042462 A1	11-10-2000
			JP 2002516062 T	04-06-2002
			WO 9932619 A1	01-07-1999
WO 0044914	A	03-08-2000	AU 2634800 A	18-08-2000
			EP 1147204 A1	24-10-2001
			WO 0044914 A1	03-08-2000
			US 2002114784 A1	22-08-2002
WO 9401550	A	20-01-1994	AT 171210 T	15-10-1998
			AU 4770093 A	31-01-1994
			CA 2139319 A1	20-01-1994
			CZ 9403332 A3	12-07-1995
			DE 69321122 D1	22-10-1998
			EP 0649467 A1	26-04-1995
			FI 946201 A	30-12-1994
			HU 69981 A2	28-09-1995
			JP 8501928 T	05-03-1996
			NO 945020 A	28-02-1995
			NZ 255028 A	24-03-1997
			PL 307025 A1	02-05-1995
			WO 9401550 A1	20-01-1994

Method for the inhibition of the expression of a target gene

The invention concerns a procedure, an application and a drug for the inhibition of the expression of a target gene.

From WO 99/32619 as well as WO 00/44895 procedures for the inhibition of the expression of medically or bio-technically interesting genes with the help of a double stranded ribonucleic acid (dsRNA) are known. The known procedures are admittedly highly effective. But the need also exists to further increase their efficiency.

The task of the following invention is to overcome the disadvantages of the current state of technology. In particular, a procedure, an application and a drug should be given that would enable an even more efficient inhibition of the expression of a target gene.

This task is solved through the characteristics of claims 1, 41 und 81. Advantageous definitions result from characteristics of the claims 2 to 40, 42 to 80 and 82 to 120.

With the invention's characteristics, surprisingly, a drastic increase of the effectiveness of the inhibition of the expression of a target gene in vitro and in vivo is reached. Through the special formation of the ends of the dsRNA, both the efficiency of the transmittance of the inhibiting effect on the expression of a target gene, as well as the dsRNA's stability can be specifically influenced. The effective concentration in the cell is increased through the amplification of the dsRNA's stability.

By a "target gene" we mean the DNA strand of the double stranded DNA in the cell, which is complementary to one that is serving as a matrix DNA strand that includes all transcribed sections. By "target gene" it is thus generally a matter of the sense strand. The one strand, or anti-sense strand (as1) can be complementary to one formed during the expression of the target gene RNA transcript or the product of its procedure, for example an mRNA. By "adoption," the absorption into the cell is to be understood. The absorption can take place through the cell itself; it can also be negotiated via adjuvants or additives. By an overhang a terminal single stranded excess end is to be understood, that does not reveal a paired nucleotide according to Watson and Crick. By "doubly stranded structure," a structure is to be understood in which the nucleotides of the single strands are essentially paired according to Watson and Crick. In the framework of the preceding invention, a doubly stranded structure can also feature a few mismatches.

According to an especially advantageous definition, the dsRNA I features the "overhang" on the 3'-end of the one strand or respectively the anti-sense strand (as1) and/or on the 3' end of the other strand or respectively sense strand (ss1.) The dsRNA I can also be smooth at one end. In this case, the smooth end is advantageously found on the side of the dsRNA I, of the 5' end of the one strand (anti-sense strand, as1). In this formation, the dsRNA shows on one hand, a very good degree of effectiveness, and on the other hand a high stability in living organisms. The effectiveness altogether in vivo is

outstanding. The overhang is preferably formed from 1 to 4 nucleotides, preferably from 1 or 2 nucleotides.

According to a further characteristic of the invention, the effectiveness of the procedure can be further raised, when at least one further dsRNA II that corresponds to the dsRNA I relating to the invention is inserted into the cell, whereby the one strand or at least a section of the one strand of the doubly stranded structure of the dsRNA is complementary to one first area of the sense strand of the target gene, and whereby

3

a further strand or at least a section of the further strand of the doubly stranded structure of the additional dsRNA II is complementary to a second area of the sense strand of the target gene. The inhibition of the expression of the target gene has, in this case, been clearly increased. The first and the second area can sectionally overlap, border each other, or can be distanced from each other.

Furthermore, it has been proven to be advantageous when the dsRNA I and/or the further dsRNA II features a length of less than 25 nucleotide pairs that follow each other in a row. A length of between 19 and 23 nucleotide pairs in length has been proven to be especially effective. The efficiency can be further raised, when on the preferably 19 to 23 nucleotide pairs formed single stranded leftovers of 1 to 4 nucleotides are present.

The target gene can, according to a further characteristic of the invention show one of the accompanying sequence protocols SQ001 to SQ140. It can also be chosen from the following group: oncogen, cytosine-gene, id-protein-gene, prion gene, gene for the expression of angiogenesis inducing molecules, from adhesion molecules and cell surface receptors, genes from protein that are involved with metastasizing and/or invasive processes. Genes from proteinases, as well as apoptosis and cell cycle regulating molecules as well as genes for the expression of the EGF receptor. The target gene can particularly be the MDR1-gene. In this context one dsRNA I/II from sequence 141-173, or one dsRNA I/II composed of combined matching anti-sense and sense sequences can be used.

According to a further advantageous characteristic of the invention, the expression is inhibited according to the principle of RNA-interference.

4

The target gene, according to the purpose, is exprimated in pathogen organisms, preferably in plasmodium. It can be a component of a virus or viroid, especially a human pathogen virus or viroid. The virus or viroid can also be an animal or plant pathogen virus or viroid.

According to a further characteristic of the invention, it is provided for that the un-paired nucleotides are substituted through nukleosidtheiophosphate.

At least an end of the dsRNA I/II can be modified, to work against a decomposition in the cell or dissociation in the single strand. Advantageously, the cohesion of the doubly stranded structure, caused by the complementary nucleotide pairs is increased through at least, one chemical linkage. The chemical linkage can be formed through a covalent or ionic bond, a hydrogen bridge bond, hydrophobic interactions, preferably a van-der-Waals or batching interaction, or through the coordination of metal ions. It has been shown to be appropriate and to increase stability when the chemical linkage is formed near an end. Further advantageous characteristics in regard to the chemical linkage can taken from the claims 24 to 30, not requiring a more detailed explanation.

The dsRNA I/II can then be particularly easily inserted into the cell, when it is contained in micellular structures, preferably in liposomes. For the transport of the dsRNA into the cell it has been shown to be advantageous, that it be bound to at least a hull protein that associates with or surrounds the dsRNA, the protein either stemming from or derived from a virus or synthetically manufactured. The hull protein can be derived from a polyoma virus. The hull protein can in particular contain the virus protein 1

5

and/or the virus protein 2 of the polyoma virus. According to a further characteristic of the invention it is provided for that for the cultivation of a capsid or capsid-type formation from the hull protein, one side of which that is turned towards the inside of the capsid or capsid-type formation. Also, it is advantageous that the one strand of the dsRNA I/II (as 1/ 2) is complementary to the primary or processed RNA transcript of the target gene. The cell can be a vertebrate cell or a human cell.

Furthermore, it has been shown that the dsRNA I/II can advantageously be given at a dose as low as a maximum of 5mg/kg body weight per day to a mammal, preferably a human. Excellent effectiveness can be attained even at this small dose.

Surprisingly, it has been shown that the dsRNA I/II can be taken up by a buffer solution and then given orally, or via injection or intravenous infusion, intramoral, inhalativ or intraperitoneal.

According to the invention, the application of a doubly stranded ribonucleic acid (dsRNA) is provided for, to inhibit the expression the of a target gene in a cell, where the dsRNA is double stranded and reveals a structure composed of a maximum of 49 nucleotide pairs in a row, and where a strand (anti-sense strand; as1) or at least a section of the one strand (as1), whose double stranded structure is complementary to the sense strand of the target gene and where the dsRNA reveals at least one from 1 to 4 Nucleotides formed overhang.

According to further requirements of the invention, a drug for the inhibition of the expression of a target gene in a cell is provided for, containing a double stranded ribonucleic acid (dsRNA) in an amount sufficient to inhibit the expression of the target

gene, where the dsRNA is double stranded and reveals a structure composed of a maximum of 49 nucleotide pairs in a row, and where a strand (anti-sense strand; as1) or at least a section of the one strand (as1), whose double stranded structure is complementary to the sense strand of the target gene and where the dsRNA I reveals at least one from 1 to 4 Nucleotides formed left over.

Due to the further advantageous design of the dsRNA I/II, the preceding implementation is referenced.

The invention will be subsequently spelled out due to the diagrams and execution examples, exemplified. It shows:

Fig. 1a, b schematically, a first and double stranded RNA and

Fig. 2 schematically, a target gene

Fig. 3 relative YFP-fluorescence after the application of various dsRNA in NIH/3T3 cells (first experiment),

Fig 4. relative YFP-fluorescence after the application of various dsRNA NIH/3T3 cells (second experiment)

Fig. 5 relative YFP-fluorescence after the application of various dsRNA in NIH/3T3 cells (fourth experiment)

- Fig. 7 relative YFP-fluorescence after the application of various dsRNA in HeLa-S3 cells (fifth experiment),
- Fig. 8 florescence microscopic images of NIH/3t3 cells after transfection with pcDNA-YFP or after co-transfection with pcDNA with pcDNA-YFP and various dsRNAs,
- Fig. 9 florescence microscopic images of HeLa-S3 cells after transfection with pcDNA-YFP or after co-transfection with pcDNA-YFP and various dsRNAs,
- Fig. 10 gel electrophoretic separation of S1 after incubation in mouse serum,
- Fig. 11 gel electrophoretic separation of S1 after incubation in human serum,
- Fig. 12 gel electrophoretic separation of S7 after incubation in mouse serum,
- Fig. 13 gel electrophoretic separation of S7 after incubation in human serum,
- Fig. 14 gel electrophoretic separation of K3 after incubation in human serum,
- Fig. 15 gel electrophoretic separation of PKC1/2 after incubation in mouse serum,
- Fig. 16 gel electrophoretic separation of S1A/S4B after incubation in human serum,

- Fig. 17 gel electrophoretic separation
- Fig. 18 GFP-specific immunoperoxidase coloring on kidney paraffin sliced transgene GPF-mice,
- Fig. 19 GFP-specific immunoperoxidase coloring on heart paraffin sliced transgene GPF-mice,
- Fig. 20 GFP-specific immunoperoxidase coloring on pancreas paraffin sliced transgene mice,
- Fig. 21 Western-spot analysis of the GRP expression in the plasma

- Fig. 22 Western-spot analysis of the GRP expression in the kidney
- Fig. 23 Western spot analysis of the GFP expression in the heart,
- Fig. 24 Western-spot analysis of the GRP expression in U-87 MG Glioblastom cells,
- Fig. 25a Northern spot analysis of the MDRI mRNA level in the Colon carcinoma cell line LS174T, where the cells were harvested after 74 hours,
- Fig. 25b Quantification of the bands according to Fig. 25a, where the middle values are displayed as two values.
- Fig. 26a Northern spot analysis of the MDRI mRNA level in the colon carcinoma cell line LS174T, where the cells were harvested after 48 hours

- Fig. 26b Quantification of the bands according to Fig. 26a, where the middle values are displayed by two values,
- Fig. 27 comparison display of a transparent/translucent and fluorescence microscopic image of a transfection with 175 nm dsRNA (Sequence R1 in Table 4)

The schematically shown doubly stranded ribonucleic acid dsRNA I and dsRNA II shown in the figs. 1a and 1b points at respectively a first end E1 and a second end E2. The first and the second ribonucleic acid dsRNA I/dsRNA II exhibit singly stranded (at their two ends E1 and E2) sections composed of about 1 to 4 unpaired nucleotides. Two possible variants are shown (Variant 1 and 2), where variant 2 points to a smooth end. The smooth end can, however, lie at the other end (E1) in a further variant.

In Fig 2, one is shown on a DNA sensitive target gene. The target gene is identified by a black bar. It points to a first area B1 and a second area B2.

The one strand of the first dsRNA I (as1) and the second dsRNA II (as2) is complementary to the respective area B1 and B2 on the target gene.

The expression of the target gene is then especially effectively inhibited when the dsRNA I/II points to singly stranded sections on their ends E1, E2. The singly stranded sections can be composed of strand as1 or as2 as well as on the anti-strand (ss1 or ss2) or on the strand as1, as2 and on the anti-strand.

The areas B1 and B2, as shown in Fig. 2, can be distanced from each other. They can also border or overlap each other, however.

I. Inhibiting the expression of the YFP-gene in fibroblasts:

From sequences of the yellow florescent protein (YFP), a variant of the GFP (green florescent protein) of the algae *Aequoria Victoria* derived double stranded RNAs (dsRNAs) were produced and together with a YFP-coded plasmid microinjected into Fibroblasts. Finally, the fluorescence uptake was measured against cells without dsRNA.

Experimental Protocol

With use of a RNA-synthesizer (type expedite 8909, Applied Biosystems, Weiterstadt, Germany) and common chemical methods, the apparent RNA single strands from the sequence protocols SQ148, 149, 159 and those single strands complementary to them were synthesized. Finally, the cleaning was done with the help of HPLC. The hybridization of the single strands to the double strand was done through the heating of the stoichiometric mixture of the single strands in 10 mM natriumphosphate buffer, pH 6,8, 100 mM NaCl, at 90 degrees C followed by slow cooling over 6 hours to room temperature. The resulting dsRNAs were then microinjected into the test cells.

The murine Fibroblasts cell line NIH/3T3, ECACC No. 93061524 (European Collection of Animal Cell Culture) served as the test system for this cell culture experiment. For the microinjections, the plasmid pcDNA-YFP was used, which contained an 800bp sized Bam HI/Eco RI-YFP fragment in the respective restrictions interfaces of the vector pcDNA3. The expression of the YFP was analyzed under the influence of transfected sequence homologous dsRNA, at the same time. The assessment

under the florescence microscope followed three hours after the injection by means of the green florescence.

Preparation of the Cell Cultures

The cultivation of the cell took place in DMEM with 4.5 g/l glucose, 10% fetal cow serum (FCS), 2 mM L-glutamin, penicillin/streptomycin (100 IE/100 ug/ML, Biochrom) in a incubator under a 5% CO₂ atmosphere at 37 degrees Celsius. The cells were passengered every 3 days, to keep them in the exponentially growth phase. One day before carrying out the transfection, the cells were trypsinsized (10x Trypsin/TEDTA, Biochrom) and sowed with a cell density of 0.3×10^5 in layered petri-dishes (Corning Cell Culture Dish, 35mm, Corning Inc., Corning USA). The Petri-dishes were incubated with 0.2% gelatin (Biochrom) for at least 30 minutes at 37 degrees Celsius, washed once with PBS and immediately used for the sowing of the cells. To enable the identification

of individual cells, CELLocate cover slips of the Eppendorf firm (square size 55µm) were used.

Microinjection:

To carry out the microinjection, the Petri-dishes were taken out of the incubator for approximately 10 minutes. Approximately 50 cells per dish and trial were microinjected (FemtoJet; Micromanipulator 5171, Eppendorf). For the microinjection, glass capillaries (Femtotip) from the Eppendorf Co. with an inner tip diameter of 0.5 µm were used. The duration of the injection was 0.8 seconds and the pressure 30hPa. The microinjections were carried out with an Olympus IX50 microscope with florescence set-up. The injection buffer was composed of 14 mM NaCl, 3 mM KCl, 10 mM KH₂PO₄, pH 7.0, that contained 0.01 µg/µl pcDNA-YFP. For the assessment of a successful microinjection, 0.08% dextran coupled Texas-red (Molecular Probes, Leiden, Netherlands) was added to the injection solution. To analyze the inhibition of the YFP with specific dsRNA, the

12

injection solution dsRNAs were given/added: Preparation 1: 0,1µm dsRNA (sequence protocol SQ148/149); Preparation 2: 0,1µm dsRNA (sequence protocol SQ148/149); Preparation 3: without RNA. After the microinjection, the cells were incubated for at least a further three hours. Thereafter, the intracellular YFP-fluorescence was evaluated at a microscope: cells with concurrent red and green cells with fluorescence: microinjection was successful, no inhibition of the YFP-expression through dsRNA was observed; or they are control cells in which no dsRNA were injected; only cells with red fluorescence: the microinjection was successful; the dsRNA inhibited the YFP-expression.

Results:

A noticeably heightened inhibition of the expression of the YFP gene in fibroblasts was observed at a dsRNA concentration of 0.1 µM with the application of the dsRNA with 3' at both ends with each two nucleotide leftover single strand areas, in comparison to dsRNA without leftover single strands (Table 1).

The use of short, 19-25 base pair containing dsRNA molecules with overhangs/leftovers from few, preferably 1 to 3 base paired, single stranded nucleotides thereby enables a comparatively strong inhibition of the gene expression in mammal cells as compared to the use of dsRNAs with the same number of base pairs without the respective single strand leftovers/overhang in similar RNA concentrations.

13

Preparation	Name	Sequence Protocol	0.1µm
-------------	------	-------------------	-------

1	S1A/ S1B	SQ148 SQ149	+
2	S1A/ S4B	SQ148(survived ends)	+++
3		Without RNA	-

Table 1: The symbols represent the relative portion of non- or weak fluorescing green cells (+++ >90%; ++ 60-90%; + 30-60%; - <10%).

II. Inhibition of the gene expression of a target gene in cultivated HELA-S3 cells and mouse fibroblasts through dsRNA:

The effectiveness of the inhibition of the YFP-expression after the transient transfection of a YFP-coding plasmid on the basis of RNA-interference with dsRNA can be modulated through the configuration of the 3'ends and the length of the base paired area.

Execution example:

For evidence of the effectiveness of the dsRNA in the specific inhibition of the gene expression, transient transfected NIH/3T3 cells (fibroblasts from NIH Swiss mouse embryo, ECCAC (European collection of animal cell culture) Nr. 93061524) and HELA-S3 (human cervical carcinoma cells, DSMZ (German collection of micro-organisms and cell cultures) Nr. ACC161) were used. For the transfection, plasmid pcDNA-YFP, containing an 800 bp sized Bam HI/ Eco RI-YFP fragment in the respective interfaces of the vector pcDNA3 was used. Double stranded RNAs (dsRNA) derived from the sequence of the yellow fluorescence protein (YFP) were manufactured

14

and transfected together with the plasmid pcDNA-YFP transient in the fibroblasts. (The specific dsRNAs used, are complementary in their antisense strands to respective sections of the gene sequences from YFP as well as GFP). After 48 hours the fluorescence taken up was quantified. Active cells, were either only with pcDNA-YFP or with pcDNA-YFO and a control dsRNA (not derived from the YFP sequence) transfected.

Experimental Protocol:

dsRNA Synthesis

With the use of a RNA synthesizer (Type Expedite 8909, Applied Biosystems, Weiterstadt, Germany) and common chemical methods, the RNA single strands apparent from the sequence protocol and their complementary RNA single strands were synthesized. Afterwards, the cleaning of the raw synthesis product took place with help of the HPLC. The Saule NucleoPac PA-100, 9x250 mm, of the Dionex Co was used; as Niedersalz-Buffer 20mM Tris, 10 mM NaClO₄, pH 6,8, 10% acetonitril and as high-salt buffer 20 mM Tris, 400 mM NaClO₄, pH 6,8, 10% acetonitril. The flow was set at 3 ml/minute. The hybridization of the single strands into double strands took place through

the heating of the stoichiometric mixture of the single strands in 10 mM natriumphosphate buffer, pH 6.8 100 mM NaCl at 80-90 degrees Celsius followed by slow cooling for 6 hours at room temperature.

The sowing of the Cells:

All cell culture work carried out under sterile conditions at an appropriate work table (HS18, Hera Safe, Kendro, Heraeus). The cultivation of the NIH/3T3 cells and the HELA-S3 took place in the incubator (CO₂-incubator T20, Hera cell, Kendro, Heraeus) at 37 degrees Celsius, 5 % CO₂ and saturated

15

humidity in DMEM (Dulbecco's modified eagle medium, Biochrom), for the mouse fibroblasts, and Ham's F12 for the HELA-cells with 10% FCS (fetal calf serum, Biochrom), 2 mM L-glutamine (Biochrom) and Penicillin/Streptomycin (100 IE/100 µm, Biochrom). To keep the cells in the exponential growth phase, the cells were passengered every 3 days. The cells were trypsinized (10x Trypsin/EDTA, Biochrom, Germany) 24 hours prior to carrying out the transfection, and with a cell density of 1.0×10^4 cells/well in a 96 hole plate (Multiwell Schalen 96-Well Flachboden, Labor Schubert & Weiss GmbH) in 150 µl growth medium.

Execution of the transient transfection:

The transfection was executed with lipofectamine Plus™ Reagent (Life Technologies) according to the instructions of the manufacturer. Each well was filled with 0.15 µg pcDNA-YFP-plasmid. The entire transfection had a volume of 60 µl. 3 time test were applied. The plasmid-DNA was first complexed together with the dsRNA. The plasmid-DNA and the dsRNA was thinned in a serum-free medium and for every 0.1 µl plasmid-DNA 1 µl PLUS Reagent was used (in a volume of 10 µl) and after mixing, it was incubated for 15 minutes at room temperature. During the incubation, for every 0.1 µg of plasmid DNA 0.5 µl Lipofectamine was thinned and mixed in a total of 10 µl serum-free medium, put back into the Plasmid/dsRNA/PLUS mixture and incubated for a further 15 minutes. During the incubation a change of medium was carried out. The cells were washed 1 x with 200 µl serum-free medium and thereafter were further incubated in the incubator until the addition of DNA/dsRNA/Plus/Lipofectamine. After 20 µl DNA/dsDNA/PLUS/Lipofectamine was added to each

16

well, the cells were incubated in the incubator for 2.5 hours. Afterwards, the cells were washed once with 200 µl growth medium was incubated in the incubator for 24 hours in 200 µl growth medium until the detection of the florescence took place.

Detection of the Florescence:

24 hours after the last medium exchange, the fluorescence of the cells, at the fluorescence microscope (IX50-S8F2, Fluorescence unit U-ULS100Hg, Brenner U-RFL0T200, Olympus) with a USH-102D-mercury lamp (USNIO Inc., Tokyo, Japan), equipped with a WIB-fluorescence cube were photographed with a digital CCD-camera (Orca IIm, Hamamatsu) and C4742-95 camera controller). The assessment of the fluorescence images took place with the analysis-software 3.1 (Soft Imaging System GmbH, Germany). To place the YFP-Fluorescence in relation to the cell density, a cell nucleus staining (Hoechst-Staining) was carried out. The cells were fixed in 100 µl Methycarnoy (75% Methanol, 25% glacial acetic acid) first for 5 and then again for 10 minutes in Methycarnoy. After the air drying, the fixed cells were incubated for 30 minutes in darkness with 100 µl Hoechst pigment per well (75 ng/ml). After washing two times with PBS (PBS Dulbecco w/o Ca^{2+} , Mg^{2+} , Biochrom), the Hoechst-colored cells under the fluorescence microscope (Olympus, WU-fluorescence cube for Hoechst) were photographed.

In the Fig 3 to 9, the results for the inhibition of the YFP expression through dsRNA in cultivated cells are summarized:

In Fig 3, 4, 5 and 6 the effects of YFP-specific dsRNAs and of Control dsRNAs on the YFP expression in NIH/3T3 mouse fibroblasts after transient transfection are summarized. The experiments were carried out as described in the experimental protocol.

17

The concentration of the dsRNA related to the concentrations in the medium during the transfection. The identifiers for the dsRNAs can be taken from Table 2. The relative fluorescence per image detail in coverage percent is represented. For each well, three different image details were assessed. The middle value was obtained from the three values.

In the Fig. 7 and 9, the specific inhibition of the YFP gene expression through dsRNAs in HELA-S3 cells is represented. In Fig. 7, the inhibiting effect of different dsRNA constructs (Table 2) is represented.

Fig 8 shows representative fluorescence microscopic images of transiently transfected NIH/3T3 mouse fibroblasts without dsRNA and with dsRNAs directed specifically against YFP (x 100 enlargement).

8A: YFP-Control

8B: S1, 10 nM

8C: S4, 10 nM

8D: S7, 10 nM

8E: S7/S11, 1 nM

8F: S7/S12, 1 nM

Fig. 9 shows representative fluorescence microscopic images of transient with YFP transfected HELA-S3 cells without dsRNA and with dsRNAs directed specifically against YFP (x 100 enlargement).

9A: K2 control, 10 nM

9B: S1, 10 nM

9C: S4, 10 nM

9D: S7, 10 nM

9E: S7/11, 1 nM

9F: S7/12, 1 nM

9G: S1A/S4B, 10 nM

18

9H: YFP control

Results:

Fig 3 shows that the YFP expression after transient cotransfection of mouse fibroblasts with the YFP-sequence directed dsRNAs can be particularly effectively inhibited when the 3' ends of the 22 and 19 base pair contained areas of the dsRNAs features single stranded sections of 2 nucleotides (nt). While the dsRNA S1 with smooth 3' ends at a concentration of 1 nM (based on the concentration in the cell culture medium during the execution of the transfection) show no inhibiting effects on the YFP-expression, the dsRNAs S7 (19 nucleotide pairs) and S4 (22 nucleotide pairs) with 2 nt leftovers/overhangs on each of both of the 3' ends inhibits the YFP expression by 50% or 70% in comparison to the respective control dsRNAs K3 and K2. With a concentration of 10 nM, the dsRNA with smooth ends identified as S1 inhibits the YFP concentration by ~65%, the YFP expression through the S4 dsRNA is inhibited by ~93%. (Fig. 4) The inhibitory effect of the dsRNAs identified as S4 and S7 is concentration-dependent. (Fig 3 and 4, see also Fig. 7)

Fig. 4 shows that the single strand formation is not necessary at both 3' ends (sense-and anti-sense strands) for the efficient repression of the YFP gene expression. To reach a effective inhibition of the YFP expression, the 2nt overhang on the 3' end of the anti-sense strand is necessary. The inhibition of the YFP expression at a concentration of 1 nM either of the dsRNAs S4 (with 2nt overhangs at both 3' ends) and S1A/S4B (with a 2nt overhang on the 3' end of the anti-strand at ~70%. However, if the 2nt overhang is to be found the 3' end of the sense-strand

19

(and the 3' end of the anti-sense strand carries no singly stranded area), then the inhibition of the YFP gene expression is merely at 50%. Analogously, the inhibition at

higher concentrations is clearly better when at least the 3' end of the anti-sense strand has a 2nt overhang.

A clearer inhibition of the YFP expression is reached when the base paired area includes 21 nucleotide pairs instead of 22 (S1 and S4), 20 (S13 or S13/14) or 19 (S7) (Fig. 5, 6 and 7). The inhibition of the YFP-expression through S1 (22 base pairs with smooth ends) in a concentration of 5 nM is at ~40%, while the inhibition through S7/S12 (21 base pairs with smooth ends), also at a concentration of 5 nM is at ~92%. If the dsRNA with 21 base pairings also features another 2nt overhang on the anti-sense 3' end (S7/S11), then the inhibition is at ~97%(as compared with ~ 73% inhibition through S4 and ~ 70% inhibition through S7).

III. Examination of the serum stability of the doubly stranded RNA (dsRNA):

The target is to raise the effectiveness found in the cell cultures, gained through the dsRNAs inhibition of the expression of the target gene for the use *in vivo*. This is achieved through an improved stability of the dsRNA in the serum and through a resulting lengthened lingering time of the molecule in the circulation and the heightened effective concentrations of the functional molecule associated therewith.

Execution Example:

20

The serum stability of the dsRNAs that inhibit the GFP expression were tested *ex vivo* in murine and human serum.

Experiment protocol:

The incubation with human and murine serum with the respective dsRNA took place at 37 degrees Celsius. With each 85 µl of serum, 15 µl 100µM dsRNA was incubated. After a certain incubation times (30 min, 1h, 2h, 3h, 4h, 8h, 12h, 24h), the samples were frozen at -80 degrees Celsius. DsRNA without serum (+85 µl ddH₂O) and dsRNA with serum at time point zero were used as controls.

For the isolation of the dsRNA from the incubation preparation that took place on ice, 400 µl 0.1% SDS was added to the preparations and to this a Phenolextraktion was undertaken: 500 µl Phenol : Chloroform : Isoamylalcohol (IAA, 25:24:1, Roti®-Phenol, Roth, Karlsruhe) were added per preparation and vortexed for 30 sec at the highest setting. (Vortex Genie-2; Scientific industries). After 10 minutes of incubation on ice, the phase separation through centrifugation at 12,000xg, 4 degrees Celsius (Sigma 3K30, Rotor 12131-H). The upper watery phase (~200 µl) was removed and then first a DNase I and thereafter a Proteinase K-digest was undertaken: addition of 20µl 10x DNaseI-Buffer (100mM Tris, pH 7,5, 25 mM MgCl₂, 1 mM CaCl₂) and 10 U DNase I (D7291,

Sigma-Aldrich), 30 min incubation at 37 degrees Celsius, further addition of 6 U DNase I and incubation for a further 20 minutes at 37 degrees Celsius, addition of 5 µl Proteinase K (20 mg/ml, 04-1075, Peqlab, Germany) and 30 min incubation at 37 degrees Celsius. Thereafter, a Phenol extraction was carried out. 500µl Phenol: Chloroform: IAA (25:24:1) was added, vortexed at the highest setting for 30 sec, centrifuged for 10 min at 12.000xg, 4 degrees Celsius, the excess taken away and shifted one after the other with 40µl 3 M Na-Ac (sodiumacetat), pH 5.2 and 1 ml 100% EtOH, in between well mixed and tumbled for at least 1 h at -80 degrees Celsius. The precipitate was pelleted through centrifugation (10 min, 12xg, 4 degrees Celsius, washed with 70% EtOH and centrifuged once again (10 min, 12,000xg 4 degrees Celsius. The air-dried pellet was taken up in 30 µl RNA-gel application buffer (7 M Harnstoff, 1 x TBE (0.09 M Tris-Borat, 0.002 M EDTA (Ethylendiamintetraacetat), 0.02% (w/v) Bromphenolblau, 0.02% (w/v) Xylencyanol) and stored at -20 degrees Celsius until the gel application.

For the characterization of the dsRNA, an analytical, denatured Polyacrylamid-Gel electrophoresis (analytical PAGE) was carried out. The carbamide gel was manufactured shortly before the run: through stirring the 7M carbamide (21g) was dissolved in 25 ml 40% watery Acrylamid/Bisacrylamid root solution (Rotiphorese Gel, A515.1, Roth) and 5 ml 10 x TBE (108 g Tris, 55 g Bor acid, 9.3 g EDTA per L aqua dest.) and then filled up to 50 ml with aqua dest.) Shortly before the pouring 50 µl TEMED (N,N,N',N'-Tetramethylethylendiamine) and 500 µl 10% APS (Ammoniumperoxidisulfate) was added. After the polymerizing, the gel was put into a vertical electrophorus apparatus (Merck, Darmstadt) and a pre-run was run for 30 min at a constant 40mA strong current. Before the application onto the gel, the RNA samples were heated for 5 min at 100 degrees Celsius, cooled on ice and was centrifuged for 20 seconds in a table centrifuge (Eppendorf, minispin). 15 µl of each was applied to the Gel. The run took place for about 2h at a constant current of 40mA. After the run, the gel was stained at RT (room temperature) with Stains all-color solution (20 ml Stains all root solution (200 mg Stains all dissolved in 200ml formamid) with 200 ml Aqua dest. 180 ml formamid) and the background color was removed through rinsing in Aqua dest. for 45 minutes. The gels were photographed with the photo documentation system Image Master VDS from Pharmacia. The Fig. 10 to 17 show the serum stability of the dsRNA after incubation with human or murine serum and the following electrophoretic separation in the 20% 7M carbamide gel.

Fig. 10: Incubation of s1 (0-22-0) in mouse serum

1. at the time point 0 (without mouse serum)
 2. at the time point 0
 3. for 30 minutes
 4. for 1 hour
 5. for 2 hours
 6. for 4 hours
 7. for 12 hours
 8. 2 µl 100 µM S1 without incubation
- S1A) sense strand S1 (10 µl 20 µM S1A)
S1B) anti sense strand S1 (10 µl 20 µM S1B)

Fig. 12: Incubation of S7 (2-19-2) in mouse serum

1. at the time point 0 (without serum)
2. for 30 minutes
3. for 4 hours
4. for 12 hours

Fig 13: Incubation of S7 (2-19-2) in human serum

1. sense strand S7 (10 μ l 20 μ M S7A)

23

2. anti-sense strand S7 (10 μ l 20 μ M S7B)
3. for 30 minutes
4. for 1 hour
5. for 2 hours
6. for 4 hours
7. for 6 hours
8. for 12 hours
9. for 24 hours
10. at the time point 0 (without serum)

Fig. 14: Incubation of K3 (2-19-2) in mouse serum

1. sense strand K3 (10 μ l 20 μ M K3A)
2. anti-sense strand K3 (10 μ l 20 μ M K3B)
3. at the time point 0 (without serum)
4. at the time point 0 (with serum)
5. for 30 minutes
6. for 1 hour
7. for 2 hours
8. for 4 hours
9. for 12 hours

Fig. 15: Incubation of PKC1/2 (0-22-2) in mouse serum

1. for 30 minutes
2. for 1 hour
3. for 2 hours
4. for 4 hours
5. for 12 hours
6. 2 μ l 100 μ M PKC1/2 (raw)

Fig. 16: Incubation of S1A/S4B (0-22-2) in human serum

1. at the time point 0 (without serum)
2. for 24 hours
3. for 12 hours

4. for 8 hours
5. for 6 hours
6. for 4 hours

24

7. for 2 hours
8. for 30 minutes
9. sense strand S1A (10 μ l 20 μ M S1A)
10. anti-sense strand S4B (10 μ l 20 μ M S4B)

Fig. 17: Incubation of K2 (2-22-2) in human serum

1. sense strand K2 (10 μ l 20 μ M K2A)
2. sense strand K2 (10 μ l 20 μ M K2B)
3. at time point 0 (without serum)
4. for 30 minutes
5. for 2 hours
6. for 4 hours
7. for 6 hours
8. for 8 hours
9. for 12 hours
10. for 24 hours

Results:

In the mouse serum as well as the human serum, dsRNAs without single stranded area on the 3' ends are significantly more stable than dsRNAs with singly stranded 2nt-overhangs on the 3' ends (Fig. 10 to 14 and 17) After 12 or 24 hours incubation of S1 in murine or human serum, a band in the original size had remained. In contrast to dsRNAs with 2nt overhangs on both 3' ends, the stability had clearly decreased in both human as well as in murine serum. Even after only 4 hours incubation of S7 (Fig. 12 and 13) or K3 (Fig. 14), no band of the original image size is detectable in the original image size.

To increase the stability of dsRNA in the serum, it is sufficient that the dsRNA possess a smooth end. In the mouse serum, the band in the original image size is hardly reduced after 4 hours of incubation, in comparison to S7 (after 4 hours full reduction, Fig. 12, track 3)

As an optimal compromise, given the biological effectiveness of dsRNA, the use of dsRNA with a smooth end and a singly stranded area of 2 nucleotides can be considered, where the single strand overhang should be found on the 3' end of the anti-sense strand.

The sequences used here are apparent from Table 2 and the sequence protocols SQ 148-151 and 153-167.

[Table 2 Follows—Please see original document]

26

IV. In vivo-study:

IV. In vivo-study:

“GFP-lab mice” that express the green fluorescing protein (GFP) in all protein bio synthesis functioning cells, double stranded RNA (dsRNA), which was derived from the GFP sequence, or unspecific dsRNA, was intravenously injected in the tail vein. At the end of the experiment, the animals were killed and the GFP expression in the tissue slices, and in the plasma was analyzed.

Experimental Protocol:Synthesis of the dsRNA:

With the use of a RNA-synthesizer (Type Expedite 8909, Applied Biosystems, Weiterstadt, German) and common chemical method, the RNA single strands obvious from the sequence protocol and their complementary single strands were synthesized. Next, the raw synthesis products were cleaned with help of the HPLC. NucleoPac PA-100, 9x250 mm of the Dionex Co. was used as pillars; 20 mM tris, 10mM NaClO₄, pH 6.8, 10% acetonitril as a low-salt buffer, and 20 mM tris, 400 mM NaClO₄, pH 6.8, 10% acetonitril. The flow was at 3 ml/minute. The hybridization of the single strands into double strands took place through heating the stoichiometric mixture of the single strands in 10 mM natriumphosphate buffer, pH 6.8, 100 mM NaCl, at 80-90 degrees C was followed by 6 hours of slow cooling at room temperature.

Experimental Animal Husbandry and Experiment Execution:

The transgenic Lab mouse breed TGN(GFPU) 5Nagy (The Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME, USA), that expressed GFP (with a beta-actin-promoter and a CMV intermediate early enhancer) in all previously investigated cells (Hadjantonakis AK et al., 1993, Mech. Dev. 76: 79-90; Hadjantonakis AK et al., 1998 Nature Genetics 19: 220-222) was used. GFP-transgenic Mice are easily separated from the respective wild types (WT) because of the Florescence (with a UV hand lamp). For the breeding, the respective WT was paired with a heterozygote GFP type.

The execution of the experiment took place according to the German animal protection rules. The animals were placed in groups of 3-5 animals in Type III Makrolon cages of the Ehret co., Emmendingen, Germany, and held under controlled conditions of 22 degrees Celsius and a light-darkness cycle of 12 h. As sawdust bedding, soft wood granules 8/15 of the Altromin co, Lage, was used. The animals received faucet water and standard pellet feed Altromin 1324 (Altromin), ad libitum.

For the execution of the experiment, the heterozygote GFP animals were kept in groups of 3 animals per cage, as described above. The injections of the dsRNA solution took place intravenously (i.v.) in the tail vein in 12 h intervals (between 5:30 and 7:00 as well as between 17:30 and 19:00) over 5 days. The injection volume was 60 µl per 10 g body weight and the dose was 2,5 mg dsRNA, or 50 µg per kg body weight. The mice were divided into groups were divided as followed:

Group A: PBS (phosphate buffered saline) each 60 µl per 10 g bodyweight,

Group B: 2.5 mg per kg bodyweight of a further unspecified control-dsRNA (K1 control with smooth ends and a double stranded area of 22 nucleotide pairs),

Group C: 2.5 mg per kg bodyweight of a further unspecified control-dsRNA (K3 control with 2nt overhangs at both 3' ends and a double stranded area of 19 nucleotide pairs),

Group D: 2.5 mg per kg bodyweight dsRNA (specifically directed against GFP, further labeled as S1, with smooth ends and a double stranded area of 22 nucleotide pairs),

29

Group E: 2.5 mg dsRNA per kg body weight (specifically directed against GFP, further labeled as S7, with 2nt leftovers at the 3' ends of both strands and a double stranded area of 19 nucleotide pairs)

Group F: 50 µg S1-dsRNA per kg bodyweight (i.e. 1/50 of the dose of Group D).

After the last injection of a total of 10 injections, the animals were killed after 14-20 hours and their organs and blood were taken at described.

Organ Extraction:

Immediately after the death of the animals through CO₂ inhalation, the blood and various organs were removed (thymus, lungs, heart, spleen, stomach, intestine, pancreas, brain, kidney and liver). The organs were rinsed in cold, sterile PBS and cut into pieces with a sterile scalpel. A piece was fixed for 24h in for immuno histo-chemical staining in methyl carnoys (MC, 60% methanol, 30% chloroform, 10% glacial acetic acid), a piece was immediately shock-frozen in liquid nitrogen for frozen cuts and protein isolation/insulation and was stored at -80 degrees Celsius; a further, smaller piece was frozen for RNA-isolation/insulation in RNAeasy-Protect (Qiagen) at -80 degrees. Right after removal, the blood was kept on ice for 30 min, mixed, centrifuged for 5 min at 2000 rpm (Mini spin, Eppendorf), the leftover taken away and stored at -80 degrees (here identified as plasma).

Processing of the Biopsies:

30

After 24 hours of fixing the tissue in MC, the tissue pieces were dehydrated in a rising alcohol series at RT (room temperature): each for 40 minutes 70% methanol, 80% methanol, 2 x 96% methanol and 3 x 100% isopropanol. Afterwards, the tissue was warmed in 100% isopropanol at 60 degrees C in an incubator; next it was incubated for 1h in an isopropanol/paraffin mixture at 60 degrees C and incubated 3 x for 2h in paraffin so that it became imbedded in paraffin. For immunoperoxidase staining, tissue slices of 3 μ m thickness was cut with a rotation microtome (Leica) and then incubated for 30 minutes in an incubator at 60 degrees Celsius.

Immunoperoxidase-staining against GFP:

The slices were de-paraffined for 3 x 5 min in xylol, rehydrated in a falling alcohol series (3 x 3 min 100 % ethanol, 2 x 2 min 95 % ethanol) and then incubated for 20 min in a 3% H₂O₂/methanol for the blockage of endogenous peroxidase. Each of the following incubation steps were carried out in a humid chamber. After 3 x 3 washing the slices with PBS, they were incubated with the 1. antibody (goat anti-GFP, sc-5384, Santa Cruz Biotechnology) 1:500 in 1% BSA/PBS at 4 degrees. The incubation lasted for 30 min at RT (room temperature) with the biotinylated secondary antibody (donkey anti-goat; Santa Cruz Biotechnology; 1:2000 dilution), afterwards incubated for a further 30 min with avidin D peroxidase (1:2000 dilution, Vector Laboratories). After each antibody incubation, the slices were washed in PBS for 3 x 3 min and buffer excess was removed from the slices with cellulose. All antibodies were diluted in 1% bovine serum albumin (BSA)/PBS. The staining with 3,3'-diaminobenzidine (DAB) was carried out with the DAB substrate kit (Vector Laboratories) according to the manufacture's instructions. Hamatoxylin II according to Gill (Merck) served as the nuclear anti-stain. Following the dehydration in a rising alcohol series and 3 x 5 min xylol, the slices were covered with Entellan (Merck).

The microscopic assessment of the staining took place with the IX50 microscope from Olympus, equipped with a CCD camera (Hamamatsu).

Protein Isolation/Insulation from Tissue Pieces:

800 μ l isolation buffer (50 mM HEPES, pH 7.5; 150 mM NaCl, 1 Mm edta;P 2.5 Mm EGTA; 2.5 mM EGTA; 10% Glycerol; 0.1% tween; 1 mM DTT; 10 mM β -glycerol-phosphate; 1 mM NaF; 0.1 mM Na₃VO₄ with a protease inhibitor-tablet "Complete" from Roche) was added to the still frozen tissue pieces and homogenized for 2 x 30 seconds with an Ultraturrax (DIAX 900, dispersion machine, cooled on ice in between. After incubating for 30 minutes on ice, they were mixed and centrifuged (3K30, Sigma) for 20 minutes at 10,000 xg at 4 degrees Celsius. The excess length was again incubated for 10 minutes on ice, mixed and centrifuged for 20 minutes at 15,000 xg at 4 degrees Celsius. With the excess length a protein determination was carried out according to Bradford,

1976, modified by Zor and Selinger, 1996, with the Roti-Nanoquant-System of Roth, according to the instructions of the manufacture. BSA (Bovine Serum Albumin) in concentrations of 10 to 100 µg/ml was used for the protein calibration.

SDS-Gel electrophoresis:

The electrophoretic separation/breakup of the proteins took place in a multigel-Long electrophoretic chamber from Biometra with a denaturing, discontinuing 15% SDS-PAGE (polyacrylamid gel electrophoresis) according to Lämmli (Nature 277: 680-685, 1970). Over this, a separating gel with a 1.5 mm thickness was poured: 7.5 ml acrylamid/bisacrylamid (30%, 0.9%), 3.8 ml 1.5 M tris/HCl, pH 8.4, 150 µl 10% SDS, 3.3 ml Aqua bidest., 250 µl ammoniumsulfat (10%), 9 µl TEMED (N, N, N', N'-tetramethylethylenediamin) and was layered with 0.1% SDS until the polymerization was completed.

32

Afterwards, the collecting gel was poured: 0.83 µl acrylamid/bisacrylamid (30%/0.9%), 630 µl 1 M tris/HCL, pH 6.8, 3.4 ml Aqua bidest., 50 µl 10% SDS, 50 µl 10% ammoniumpersulfate, 5 µl TEMED.

Before applying the gel, the protein was shifted with a corresponding amount of 4 times test buffer (200 mM tris, pH 6.8 4% SDS, 100 mM DTT (Dithiotreitol), 0.02% bromphenol blue, 20% glycerin), denatured for 5 minutes in a heating block at 100 degrees C, after the cooling put on ice and de-centrifuged and applied onto the gel. Per row the same amount of plasma or protein amounts was used (each 3 µl plasma or 25 µg total protein). The electrophoretic followed, cooled by water at room temperature and a constant 50 V. The protein gel marker from Bio-Rad (Kaleidoscope Prestained Standard) was used as the standard length.

Western Blot and Immune Detection:

The transfer of the proteins from the SDS-PAGE to a PVDF (polyvinylidene difluoride) – membrane (Hybond-P, Amersham) took place under the semi-dry method according to Kyhse-Anderson (J. Biochem. Biophys. Methods 10: 203-210, 1984) at room temperature and under a constant current of 0.8 mA/cm² for 1.5 h. A tris/glycin buffer (39 mM glycine, 46 mM tris, 0.1% SDS and 20% methanol) served as the transfer buffer. For the investigation of the electrophoretic transfers, the gel was stained with coomassie (0.1% coomassie G250, 45% methanol, 10% ice vinegar) after the blotting as well as the Blot membrane after the immune detection. For the saturation of unspecific bonds, the Blot membrane was incubated at room temperature after the transfer in 1% skim milk powder/PBS for 1h. Afterwards, each was washed three times for 3 min with 0.1% tween 20/PBS. All antibody incubations which followed took place 0.1% tween 20/PBS. The incubation with the primary antibody (goat anti-GFP, sc-5384, Santa Cruz Biotechnology) in a dilution of 1:1000 took place for 1 h at room temperature. Next 3 x 5 min washing took place, and was incubated with the secondary antibody in a dilution of

1:10,000 at room temperature. The detection was done with the ECL-system from Amersham as per the manufacturer's instructions.

In Fig 18 to 20, the inhibition of the GFP expression after intravenous injection of dsRNA specifically directed against GFP with immunoperoxidase staining against GFP on 3 μ m paraffin slices is displayed.

In the course of the experiment, dsRNA directed against GFP with a doubly stranded area of 22 nucleotides (nt) pairs without overhangs on the 3' ends (D) and the respective unspecific contro-dsRNA (B) as well as dsRNA specifically directed against GFP with a 19 nucleotide pair double stranded area with 2nt overhangs on the 3' ends (E) and the respective unspecific control dsRNA (C) were applied in 12 hour intervals over a period of 5 days. (F) got 1/50 of the dose of group D. As a further control, the animals who did not receive dsRNA (A) in other words, WT animals, were investigated. Fig 18 shows the inhibition of the GFP expression in kidney slices, Fig 19 in heart and Fig 20 in pancreas tissue. In Fig 21. to 23., western blot analyses of the GFP expression in plasma and tissue is displayed. The inhibition of GFP expression in plasma is shown in Fig 21, in the kidney in Fig. 22, and in the heart in Fig. 23. In Fig. 23, the total protein isolate from various animals is applied. Also, equal amounts of total protein were applied per row/channel. In the animals who were given unspecific control dsRNA (animals in the groups B and C), the GFP expression is not reduced as compared to animals who received no dsRNA. Animals that were given dsRNA specifically directed against GFP with 2nt overhangs at the 3' ends of both strands and a double stranded area out of 19 nucleotide pairs, showed a significantly inhibited GFP expression in the investigated tissues (heart, kidney, pancreas and blood), compared with untreated animals (Fig. 18 to 23). Among the animals of groups D and F that got dsRNA specifically directed against GFP with smooth ends and a double stranded area out of 22 nucleotide pairs, only animals that received the dsRNA in a dose of 50 μ g/kg bodyweight per day showed a specific inhibition of the GFP expression, which was, however, less clearly pronounced than that of the animals in group E.

The summarizing evaluation of GFP inhibition in the tissue sliced and in the western blot shows that the inhibition of the GFP expression is strongest in the blood and in the kidney. (Fig. 18, 21 and 22).

V. Inhibition of the Gene Expression of the EGF Receptor with dsRNA as Therapeutic Preparation for Cancer Forms with EGFR Over-expression or EDNR induced Proliferation:

The epidermal Growth Factor (=EGF) –Receptor (=EGFR) belongs to the receptor-tyrosinkinased, transmembranes proteins with an intrinsic tyrosinkinase-activity, which are involved in the control of a row of cellular processes like cell growth, cell differentiation, migratory processes or the cell vitality (in: Van der Geer et al. 1994). The family of the EGFR consists of 4 members, EGFR (ErbB1), HER2 (ErbB2), HER3 (ErbB3) and HER4 (ErbB4) with a trans membrane domain, a cystein-rich extra-cellular

domain and an intracellular catalytic domain. The sequence of the EGFR, a 170 kDa protein, has been known since 1984(Ullrich et al., 1984).

35

The EGFR is activated through peptide-growth factors such as EGF, TGF α (transforming growth factor) amphiregulin, betacellulin, HB-EGF (heparin-binding EGF-like growth factor) and neureguline. Ligand bonds induce the formation of homo- or heterodimers with following autophosphorylation of cytoplasmatic tyrosine (Ulrich and Schlessinger, 1990; Alroy & Yarden, 1997). The phosphorylated amino acids form the bonding areas for a large number of proteins that are involved in the proximal steps of signal transferring in a complex network. The EGFR takes part in a wide variety of tumor sicknesses and is therefore a suitable target for therapeutic appendages (Huang & Harari, 1999). The mechanisms, that lead to a aberrant EGFR-activation can be a result of over expression, amplification, constitutive activation of mutant receptor forms or autocrine loops (Voldborg et al., 1997). A over expression of the EGFR was described for a number of tumors, such as breast cancer (Walker & Dearing, 1999), not small lung carcinomas, (Fontantini et al., 1998), Pancrease carcinomas, colon carcinoma (Salomon et al. 1995) and glioblastomas (Rieske et al., 1998). In particular for malignant glioblastomas there are no efficient and specific therapeutics available.

Example of Execution

For evidence of the effectiveness of the dsRNA for the specific inhibition of the EGFR gene expression U-87 MG-cells (human glioblastoma cells), ECCAC (European collection of animal cell culture) Nr. 89081402, were used that were transfected with dsRNA which were specifically adjusted against the EGF receptors (sequence protocol SQ 51). After approximately 72 hours of incubation, the cells were harvested, the protein was isolated and the EGFR expression was examined using the Western Blot procedure.

36

Experimental Protocol:

dsRNA-Synthesis:

By means of a RNA synthesizer (Model Expedite 8909, Applied Biosystems, Weiterstadt, Germany) and conventional chemical procedure the RNA single strands apparent in the sequence protocol and the single strands complementary to them were synthesized. The cleaning of the raw synthesis product, followed with the help of HPLC. The following were used: the pillar NucleoPac PA-100, 9x250 mm, of the firm Dionex, as low salt buffer 20 mM tris, 10 mM NaClO₄, ph 6.8, 10% acetonitril and as high salt buffer 20 mM tris, 400 mM NaClO₄, ph 6.8, 10% acetonitril. The flow amounted to 3 ml/minute. The hybridization of the single strands to dual strand occurs through heating the stoichiometric mix of the single strands in 10 mM sodium phosphate buffer, ph 6.8,

100 mM NaCl, to 80-90 degrees Celsius and cooling slowly to room temperature over the period of 6 hours.

Sowing the Cells:

All work on cell culture was done under sterile conditions in an appropriate work bench (HS18, Hera Safe, Kendro, Heraeus). The cultivation of the U-87 MG cells occurs in a incubator (CO₂-incubator T20, Hera cell, Kendro, Heraeus) at 37 degrees Celsius, 5% CO₂ and saturated air humidity in DMEM (Dulbecco's modified eagle medium, Biochrom) with 10% FCS (fetal calf serum, Biochrom), 2 mM L-Glutamine (Biochrom), 1 mM sodium pyruvate (Biochrom), 1xNEAA (Non-essential amino acids, Biochrom). In order to keep the cells in the exponential growth phase, the cells were passaged every 3 days. 24 hours before the application of the dsRNA by means of transfection, the cells were trypsinized (10x trypsin/EDTA, Biochrom, Germany)

37

and were sown with a cell density of 5×10^5 cell/depth in a 6 shaft plate (6-shaft pods, Labor Schubert & Weiss Ltd) in 1.5 ml growth medium.

Application of the dsRNA in cultivated U-87 MG cells:

The application of the dsRNA occurs by means of transfection with the OLIGOFECTAMINETM Reagent (Life Technologies) according to the specifications of the manufacturer. The total transfection volume amounted to 1 ml. First the dsRNA was thinned in a serum free medium: to it was added per shaft 0.5 µl of a 20 µM original solution of unspecific dsRNA (K1A/K2B) thinned with 175 µl serum free medium (200 nM dsRNA in transfection preparation and 10 nM specific EGFR-dsRNA). The OLIGOFECTAMINETM reagent was also thinned in serum free medium: per shaft 3 µl with 12 µl medium and afterwards incubated for 10 minutes at room temperature. After that the thinned OLIGOFECTAMINETM reagent was then put into the dsRNA thinned with serum free medium, mixed and incubated for another 20 minutes at room temperature. During the incubation a medium change was carried out. The cells were washed once for this purpose with 1 ml serum free medium and were incubated with 800 µl serum free medium in an incubator until the addition of the dsRNA/OLIGOFECTAMINETM reagent. After the addition of 200 µl dsRNA/OLIGOFECTAMINETM reagent per shaft the cells were incubated in the incubator until the protein isolation.

Protein isolation:

Approximately 72 hours after the transfection the cells were harvested and a protein isolation was carried out. For this purpose the medium was taken up and the cell monolayer was washed once with PBS. After the addition of 200 µl protein isolation buffer (1x Protease-Inhibitor "Complete", Roche, 50 mM HEPES, pH 7.5,

38

150 mM NaCl, 1 mM EDTA, 2.5 mM EGTA, 10 % Glycerin, 0.1% Tween-20, 1 mM DTT, 10 mM β -Glycerinphosphate, 1 mM NaF, 0.1 mM Na₃VO₄) the cells were detached with the help of a cell scraper, incubated for 10 minutes on ice, transferred into a Eppendorf reaction container and stored at -80 degrees Celsius for at least 30 mins. After defrosting the Lysat was homogenized with a disperger (DIAX 900, disperging tool 6G, Heidolph Instruments Ltd. & Co. KG, Schwabach) for 10 seconds on level 3, incubated for 10 min on ice and centrifuged for 15 minutes at 14.000xg (3K30, Sigma). With the excess a protein determination was undertaken according to Bradford with the Roti®-Nanoquant-System from Roth (Roth Ltd. & Co., Karlsruhe) according to the specifications of the manufacturer. 200 μ l protein solution in suitable dilution was mixed with 800 μ l 1x working solution and the extinction was measured in semi micro cuvettes for Aqua dest. in a Beckman Spectralphotometer (DU 250). For an even calibrator the appropriate BSA dilutions were used (perliertes BSA, Sigma).

SDS-Gel Electrophoresis

The electrophoretic separation of the protein occurs in a multi gel-long electrophoresis chamber from Biometra with a denaturing, discontinuous 7.5% SDS PAGE (Polyacrylamide gel electrophoresis) according to Lämmli (Nature 277: 680-685, 19970). First a separation gel was poured with a thickness of 1.5 mm: 3.75 ml acrylamide/bisacrylamide (30%, 0.9%), 3.8 ml 1M tris/HCL, pH 8.4, 150 μ l 10% SDS, 7.15 ml Aqua bi-dest., 150 μ l ammoniumpersulphate (10%), 9 μ l TEMED (N,N,N',N'-tetramethylethylenediamin) and covered 0.1% SDS with until full polymerization. Afterwards the collector gel was poured: 0.83 ml acrylamide/bisacrylamide (30%/0.9%), 3.8 ml 1 M tris/HCL, pH 6.8, 3.4 ml Aqua bidest., 50 μ l 10% SDS, 50 μ l 10% ammoniumpersulphate, 5 μ l TEMED.

For the application on the gel the protein samples were offset 1:3 with 4x sample buffers (200 mM tris, pH 6.8, 4% SDS, 100 mM DTT (dithiotreitol), 0.02% bromphenol blue, 20% glycerin), denatured for 5 min at 100 degrees Celsius, centrifuged after having cooled off on ice and applied to the gel. 35 μ g total protein was applied per tract. The procedure occurred under water cooling at room temperature and constant 50 V. The Kaleidoscope-Proteingelmarker (BioRad) was used as a standard of length.

Western Blot and Immune Detection:

The transfer of the proteins from SDS-PAGE to a PVDF (Polyvinylidene difluoride) – membrane (Hybond-P, Amersham) occurred in semidry procedure according to Kyhse_anderse (J. Biochem. Biophys. Methods 10: 203-210, 1984) at room temperature and a constant current of 0.5 mA/cm² for 1.5 hours. As a transfer buffer the following were used: cathode buffer (30 mM tris, 40 mM glycine, 10% methanol, 0.01% SDS; pH 9.4), anode buffer I (300 mM tris, pH 10.4, 10% methanol) and anode buffer II (30 mM tris, pH 10.4, 10% methanol. Before the composition of the blot staple with 3MM Whatman-Paper (Schleicher & Schüll) the gel was incubated (5 minutes) in the cathode buffer and the PVDF-membrane (first 30 seconds in 100% methanol) in the anode buffer II: 2 layers 3MM-paper (anode buffer I), 1 layer 3 MM paper (anode buffer

II), PVDF-membrane, gel, 3 layers 3MM-paper (cathode buffer). To test the electrophoretic transfer the gels after the blotting as well as the blot membranes after the immune detection were colored with coomassie (0.1% coomassie G250, 45% methanol, 10% ice vinegar).

The blot membranes were incubated after the transfer in 1% skim milk powder/PBS/0.1% Tween-20 for 1 hour at room temperature. Afterwards it was washed 3 times for 3 minutes with 0.1% Tween-20/PBS. All subsequent antibody incubation and washing steps occurred in 0.1% Tween-20/ PBS. The incubation with the primary antibody (Human EGFR extracellular domain, specific goat IgG, Cat-Nr. AF231, R&D Systems) occurred on a shaker for 2 hours at room temperature in a concentration of 1.5 µg/ml. Afterwards it was washed 3 x 5 minutes and incubated (1:10,000 diluted) for 1 hour at room temperature with the secondary antibody (donkey anti-goat IgG Horseradish Peroxidase labeled, Santa Cruz Biotechnology). After the washing (3 x 3 min in PBS/0.1% Tween-20) the detection followed right away by means of ECL Reaction (enhanced chemiluminescence) : To 18 ml Aqua dest. 200 µl solution A (250 mM Luminol, Roth, dissolved in DMSO), 89 µl solution B (90 mM p-Coumar acid Sigma, dissolved in DMSO) and 2 ml 30% H₂O₂ solution was added using a pipette. According to the size of the membrane 4-6 ml were directly pipetted onto the membrane, incubated for 1 minute at room temperature and afterwards immediately placed on x-ray film (Biomax MS, Kodak).

The sequences used here are given in the following table 3 as well as in the sequence protocols SQ153, 157, 158, 168-173.

Table 3 here (see original)

Table 3Inhibition of the EGFR Expression in U-87 MG Glioblastom Cells:

24 hours after the sowing of the cells they were transfected with 10 nM dsRNA as explained (Oligofectamine). After 72 hours the cells were harvested and the protein was isolated. The separation of the protein occurred in 7.5% SDS-PAGE. Per track there was 35 µg of total protein applied. In figure 24 the corresponding Western blot analysis is shown, from which it appears that with the specifically adjusted dsRNA to counter the EGFR gene with the 2nt overhang on the 3' end of the antisense strand the EGFR expression can be inhibited in comparison with the control cells after the transfection in U-87 MG cells. This inhibition of the expression of an endogenous gene through specific dsRNA confirms the results of execution example II on the inhibition of the expression of a transient transfection in the artificial gene brought into the cell. The inhibition of the EGFR expression caused by ES-7 and ES-8 is clearly smaller. The dsRNAs used in figure 24 are extracted from table 3.

VI. Inhibition of the Expression of the Multidrug Resistance Gene 1 (MDR1):Experimental Protocol

The in vitro evidence for the blocking of the MDR1-expression was carried out in the colon carcinoma cell line LS174t (ATCC – American Type Culture Collection; Tom et al., 1976). From this cell line it is known that the expression of the MDR1 is inducible through the addition of Rifampicin as a culture medium (Geick et al., 2001). Transfection was carried out with various buyable transfection kits (lipofectamine, oligofectamine, both invitrogenes; TransMessenger, Qiagen), where the TransMessenger transfection kit proved to be the best suited for this cell line.

To carry out the RNA interference experiment 4 short double stranded ribonucleic acids R1-R4 were used whose sequences are shown in table 4. The ribonucleic acids are homologous with sections of the coded sequence from MDR1 (sequence protocol SQ 30). The sequences R1-R3 consist of a 22-mer sense- and a 24-mer antisense-strand, where the resulting double strand shows a 2-nucleotide-overhang (0-22-2) on the 3' end of the antisense strand. The sequence R4 corresponds to R1, however it consists of a 19-mer double strand with 2 nucleotide overhangs each on each 3' end (2-19-02)

Table 4 here (see original)

The sequences shown in table 4 are given again in the sequence protocol as sequences SQ141-147, 152, 153, 158. The dsRNAs were transfected into cells in a concentration of 175 nM each as double appendages, the cells were sowed the day before in 12 hole plates at 3.8×10^5 cell/deepness. In addition 93.3 µl EC-R-Buffer was blended with 3.2 µl Enhancer-R and afterwards 3.5 µl of the 20 µM dsRNA was added to each, well mixed

and incubated for 5 minute at room temperature. After the addition of 6 μ l TransMessenger Transfection Reagent the transfection appendages were thoroughly mixed for 10 seconds and incubated for 10 minutes at room temperature. In the meantime the cells had the medium sucked away, were washed once with PBS (phosphate buffered saline) and 200 μ l fresh medium without FCS pro deepness was given to the cells. After the expiration of the 10 minute incubation period 100 μ l FCS free medium was added to each transfection appendage by means of a pipette, it was mixed and the mix was delivered to the cells drop by drop using a pipette (the dsRNA concentration of 175 μ M relates to 400 μ l total volume of the medium). The dsRNA/trans-messenger-complex was incubated for 4 hours at 37 degrees Celsius in FCS free medium. Afterwards a medium switch was carried out where the fresh medium contained 10 μ M Rifampicin and 1-% FCS. As a control an unspecific dsRNA sequence was used that showed no homology with the MDR1-gene sequence, and a MOCK-transfection was carried out, that contained all reagents except for the dsRNA.

The cells were harvested after 24, 48 and 72 hours and the total RNA was extracted with the RNeasy-Mini-Kit from Qiagen. 10 μ g total RNA of each test was electrophoretically separated with a 1% Agarose-Formaldehyd-Gel, blotted on a nylon membrane and hybridized with 5'- α^{32} P-dCTP random marked specific probes first as a internal control against MDR1 and after the stripping of the blot against GAPDH and exposed on x-ray film.

The x-ray films were digitalized (Image Master, VDS Pharmacia) and were quantified with the Image-Quant-Software. A comparison between the MDR1-specific bands and the corresponding GAPDH bands were then carried out.

Results:

The figure 25 and 26 show Northern-Blots (fig. 25a, 26a) with quantitative analysis of the MDR1-specific bands after the comparison with the corresponding GAPDH values (fig 25b, 26b). A reduction of the MDR1-mRNA of up to 55% in comparison to the MOCK-transfection and up to 45% in comparison to the unspecific control transfection was observed. After 48 hours a significant reduction of the MDR1-mRNA-level was achieved with the dsRNA constructs referred to as R1, R2, R3 (table 4). With the R4-dsRNA-constructs no significant reduction over that of the controls was observed after 48 hours (fig. 26a and 26b). After 74 hours a clearly stronger reduction of the MDR1-mRNA-Level was observed with R1, R2 and R3 with respect to the controls in comparison to the 48 hour values (fig 25a and 25 b).

With R4 a clear reduction of the MDR1-mRNA-Level could also be achieved at this point in time. Therefore the constructs with a 2nt overhang on the 3' end of the antisense strand and a double stranded area of 22 nucleotide pairs, relatively independent from the MDR1-gene homologous sequence area (after 48 hours; fig 26b) reduce the MDR1-mRNA-Level more efficiently than the constructs with the 2nt overhangs on the 3' ends of both strands (antisense and sense strand) and a double strand area of 19 nucleotide pairs. These results strengthen the execution example IV described inhibition of the EGFR gene expression through specific dsRNAs after transfection in U-87 MG cells.

The transfection efficiency was ascertained in a separate experiment with the help of a Texas-Red-marked DNA-Oligonucleotide (TexRed-A(GATC) ₅T; also 175 nM transfixed)(Fig. 27a, 27b; 400x enlargement, 48 hours after transfection). It consisted of approximately 50% of the red fluoresced cells in comparison to the total cell count. If one takes into account the transfection rate of the cells of approximately 50%, the observed reduction of the MDR1-mRNA-Level lies at about 45-55% (compared to the controls), the, nearing the conclusion, that in all cells that were successfully transfixed with specific dsRNA, the MDR1-mRNA was nearly completely and specifically decomposed.

Patent claims

1. Procedure for the inhibition of a target gene in a cell including the following the steps:

Insertion of a least on dual stranded ribonucleic acid (dsRNA I) in an amount large enough to inhibit the expression of the target gene,

Where the dsRNA I shows a dual stranded structure formed of at most 49 consecutive nucleotide pairs, and where one strand (as1) or at least one section of one strand (as1) of the double stranded structure is complementary to the target gene

And where the dsRNA at least on one end (E1, E2) of the dsRNA I shows a overhang formed of 1 to 4 nucleotide pairs.

2. Procedure according to claim 1, where the dsRNA I shows the overhang on the 3' end of the one strand (as1) and/or on the 3' end of the other strand (ss1).
3. Procedure according of claim 1 or 2, where the dsRNA I is formed smoothly on one end (E1, E2).
4. Procedure according to claim 3 where the smooth end (E1, E2) contains the 5' end of the one strand (as1).
5. Procedure according to one of the previous claims, where the overhang of 1 to 4 nucleotides is formed of preferably 1 or 2 nucleotides.
6. Procedure according to one of the previous claims, where at least another dual stranded ribonucleic acid (dsRNA II) corresponding to the dsRNA I according to the previous claims is inserted into the cell, where the one strand (as1) or at least a section of the one strand (as1) of the dsRNA I is complementary to a first area (B1) of the target gene, and where a further strand (as2) or at least a section of a further strand (as2) of the dsRNA II is complementary to a second area (B2) of the target gene.
7. Procedure according to one of the previous claims, where the dsRNA I and/or the dsRNA II shows a length of less that 25, preferably 19 to 23, consecutive nucleotide pairs.
8. Procedure according to one of the previous claims, where the first (B1) and the second area (B2) overlap or border on each other.
9. Procedure according to one of the previous claims, where the first (B1) and the second area (B2) are kept apart.

10. Procedure according to one of the previous claims, where the target gene shows one of the sequences SQ001 to SQ140.
11. Procedure according to one of the previous claims, where the target gene is chosen from the following group: oncogenes, cytokine genes, Id-protein-genes, prion genes, genes from angiogenesis induced molecules, from adhesion molecules and from cell surface receptors, genes from proteins, that take part in metastasizing and/or invasive processes, genes from proteinases as well as apoptose and cell cycle regulating molecules.
12. Procedure according to one of the previous claims, where the target gene is the MDR1-gen.
13. Procedure according to one of the previous claims, where as dsRNA I/II one of the sequences SQ141 -173 is used and one of two respective matching anti sense (as1/2) and sense sequences (ss1/2) combined dsRNA construct of the sequences SQ 141-173 is used.
14. Procedure according to one of the previous claims, where the expression according to the principle of the RNA interference is inhibited.
15. Procedure according to one of the previous claims, where the target gene is exprimated in pathogenic organisms, preferably in plasmodia.
16. Procedure according to one of the previous claims, where the target gene is a part of a virus or viroid.
17. Procedure according to claim 16, where the virus is a human pathogenic virus or viroid.
18. Procedure according to claim 16, where the virus or viroid is an animal or plant pathogenic virus or viroid.
19. Procedure according to one of the previous claims, where unpaired nucleotides are substituted with Nucleosidthiophosphate.
20. Procedure according to one of the previous claims, where at least one end (E1, E2) of the dsRNA I/II is modified no counteract a decomposition in the cell or a dissociation in the single strands.
21. Procedure according to one of the previous claims, where the cohesion brought about through the complementary nucleotide pairs of the dual stranded structure is strengthened by at least one chemical bond.
22. Procedure according to one of the previous claims, where the chemical bond is formed through a covalent or ionic bond, a hydrogen bond, hydrophobic

interaction, preferably van-der-Waals- or batching interaction, or through metal-ion coordination.

23. Procedure according to one of the previous claims, where the chemical bond in is formed the proximity of the one end (E1, E2).
24. Procedure according to one of the previous claims, where the chemical bond is formed by means of one or more bonding groups, where the bonding groups are preferably poly- (oxyphosphinicooxy-1,3-propandiol) and/or oligoethylenglycol chains.
25. Procedure according to one of the previous claims, where the chemical bond is formed of branched nucleotide analogues instead of nucleotides.
26. Procedure according to one of the previous claims, where the chemical bond is formed by purine analogues.
27. Procedure according to one of the previous claims, where the chemical bond is formed by azabenzoyl units.
28. Procedure according to one of the previous claims, where for the manufacturing of the chemical bond at least one of the following groups is used: methyl blue; bifunctional groups, preferably bis-(2-chloroethyl)-amine; N-acetyl-N'-(p-glyoxyl-benzoyl)-cystamin; 4-thiouracil; psoralen.
29. Procedure according to one of the previous claims, where the chemical bond is formed by the thiosphoryl groups near the ends of the double stranded areas.
30. Procedure according to one of the previous claims, where the chemical bond is produced by triple helix bonds near the ends (E1, E2).
31. Procedure according to one of the previous claims, where the dsRNA I/II is enclosed in micellular structures preferably in liposomes.
32. Procedure according to one of the previous claims, where the dsRNA I/II is connected to, associated with or surrounded by a viral cladding protein that is taken or derived from a virus or synthetically produced.
33. Procedure according to one of the previous claims, where the cladding protein is derived from the polyoma virus.
34. Procedure according to one of the previous claims, where the cladding protein contains the virus protein 1 (VP1) and or the virus protein 2 (VP2) of the polyoma virus.

35. Procedure according to one of the previous claims, where the formation of a capsid or a capsid type structure from a cladding protein in which one side is turned to the inside of the capsid or capsid type structure.
36. Procedure according to one of the previous claims, where the one strand (as1, as2) of the dsRNA I/II is complementary to the primary or the processed RNA transcript of the target gene.
37. Procedure according to one of the previous claims, where the cell is a vertebrate cell or a human cell.
38. Procedure according to one of the previous claims, where the dsRNA I/II is administered in an amount of at most 5 mg per kilogram of body weight per day in a mammal, preferably a human.
39. Procedure according to one of the previous claims, where the dsRNA I/II is taken up by a buffer solution for application.
40. Procedure according to one of the previous claims, where the dsRNA I/II is administered orally or by means of injection or intravenous infusion, intratumorally, by means of inhalation or intraperitoneally.
41. Application of a double stranded ribonucleic acid (dsRNA I) to inhibit the expression of a target gene in a cell,

where the dsRNA I shows a double stranded structure formed of at most 49 consecutive nucleotide pairs, and where one strand (as1) or at least a section of the one strand (as1) of the double stranded structure is complementary to the target gene,

and where the dsRNA I shows a overhang formed of 1 to 4 nucleotides at least on one end (E1, E2).

42. Application according to claim 41, where the dsRNA I shows the overhang on the 3' end of the one strand (as1) and/or on the 3' end of the other strand (ss1).
43. Application according to claim 41 or 42, where the dsRNA I is formed smoothly on one end (E1, E2).
44. Application according to claim 43 where the smooth end (E1, E2) contains the 5' end of the one strand (as1).
45. Application according to one of the claims 41 to 44, where the overhang of 1 to 4 nucleotides is formed of preferably 1 or 2 nucleotides.
46. Application according to one of the claims 41 to 45, where at least another dual stranded ribonucleic acid (dsRNA II) corresponding to the dsRNA I according to

one of the claims 41 to 45, is inserted into the cell, where the one strand (as1) or at least a section of the one strand (as1) of the dsRNA I is complementary to a first area (B1) of the target gene, and where a further strand (as2) or at least a section of a further strand (as2) of the dsRNA II is complementary to a second area (B2) of the target gene.

47. Application according to one of the claims 41 to 47, where the dsRNA I and/or the dsRNA II shows a length of less than 25, preferably 19 to 23, consecutive nucleotide pairs.
48. Application according to one of the claims 41 to 47, where the first (B1) and the second area (B2) overlap or border on each other.
49. Application according to one of the claims 41 to 48, where the first (B1) and the second area (B2) are kept apart.
50. Application according to one of the claims 41 to 49, where the target gene shows one of the sequences SQ001 to SQ140.
51. Application according to one of the claims 41 to 50, where the target gene is chosen from the following group: oncogenes, cytokine genes, Id-protein-genes, prion genes, genes from angiogenesis induced molecules, from adhesion molecules and from cell surface receptors, genes from proteins, that take part in metastasizing and/or invasive processes, genes from proteinases as well as apoptosis and cell cycle regulating molecules.
52. Application according to one of the claims 41 to 51, where the target gene is the MDR1-gen.
53. Application according to one of the claims 41 to 52, where as dsRNA I/II one of the sequences SQ141 -173 is used and one of two respective matching anti sense (as1/2) and sense sequences (ss1/2) combined dsRNA construct of the sequences SQ 141-173 is used.
54. Application according to one of the claims 41 to 53, where the expression according to the principle of the RNA interference is inhibited.
55. Application according to one of the claims 41 to 54, where the target gene is expressed in pathogenic organisms, preferably in plasmodia.
56. Application according to one of the claims 41 to 55, where the target gene is a part of a virus or viroid.
57. Application according to claim 56, where the virus is a human pathogenic virus or viroid.

58. Application according to claim 56, where the virus or viroid is an animal or plant pathogenic virus or viroid.
59. Application according to one of the claims 41 to 58, where unpaired nucleotides are substituted with Nucleosidthiophosphate.
60. Application according to one of the claims 41 to 59, where at least one end (E1, E2) of the dsRNA I/II is modified no counteract a decomposition in the cell or a dissociation in the single strands.
61. Application according to one of the claims 41 to 60, where the cohesion brought about through the complementary nucleotide pairs of the dual stranded structure is strengthened by at least one chemical bond.
62. Application according to one of the claims 41 to 61, where the chemical bond is formed through a covalent or ionic bond, a hydrogen bond, hydrophobic interaction, preferably van-der-Waals- or batching interaction, or through metal-ion coordination.
63. Application according to one of the claims 41 to 62, where the chemical bond in is formed the proximity of the one end (E1, E2).
64. Application according to one of the claims 41 to 63, where the chemical bond is formed by means of one or more bonding groups, where the bonding groups are preferably poly- (oxyphosphinicooxy-1,3-propandiol) and/or oligoehtylenglycol chains.
65. Application according to one of the claims 41 to 64, where the chemical bond is formed of branched nucleotide analogues instead of nucleotides.
66. Application according to one of the claims 41 to 65, where the chemical bond is formed by purine analogues.
67. Application according to one of the claims 41 to 66, where the chemical bond is formed by azabenzoyl units.
68. Application according to one of the claims 41 to 67, where for the manufacturing of the chemical bond at least one of the following groups is used: methyl blue; bifunctional groups, preferably bis-(2-chloroethyl)-amine; N-acetyl-N'-(p-glyoxyl-benzoyl)-cystamin; 4-thiouracil; psoralen.
69. Application according to one of the claims 41 to 68, where the chemical bond is formed by the thiosphoryl groups near the ends of the double stranded areas.
70. Application according to one of the claims 41 to 69, where the chemical bond is produced by triple helix bonds near the ends (E1, E2).

71. Application according to one of the claims 41 to 70, where the dsRNA I/II is enclosed in micellular structures preferably in liposomes.
72. Application according to one of the claims 41 to 71, where the dsRNA I/II is connected to, associated with or surrounded by a viral cladding protein that is taken or derived from a virus or synthetically produced.
73. Application according to one of the claims 41 to 72, where the cladding protein is derived from the polyoma virus.
74. Application according to one of the claims 41 to 73, where the cladding protein contains the virus protein 1 (VP1) and or the virus protein 2 (VP2) of the polyoma virus.
75. Application according to one of the claims 41 to 74, where the formation of a capsid or a capsid type structure from a cladding protein in which one side is turned to the inside of the capsid or capsid type structure.
76. Application according to one of the claims 41 to 75, where the one strand (as1, as2) of the dsRNA I/II is complementary to the primary or the processed RNA transcript of the target gene.
77. Application according to one of the claims 41 to 76, where the cell is a vertebrate cell or a human cell.
78. Application according to one of the claims 41 to 77, where the dsRNA I/II is administered in an amount of at most 5 mg per kilogram of body weight per day in a mammal, preferably a human.
79. Application according to one of the claims 41 to 78, where the dsRNA I/II is taken up by a buffer solution for application.
80. Application according to one of the claims 41 to 79, where the dsRNA I/II is administered orally or by means of injection or intravenous infusion, intratumorally, by means of inhalation or intraperitoneally.
81. Drug for the inhibition of the expression of a target gene in a cell containing a double stranded ribonucleic acid (dsRNA I) in an amount that is sufficient to inhibition the expression of the target gene,

where the dsRNA I shows a double stranded structure formed of at most 49 consecutive nucleotide pairs,

and where one strand (as1) or at least a section of the one strand (as1) of the double stranded structure is complementary to the target gene,

and where the dsRNA I shows a overhang formed of 1 to 4 nucleotides at least on one end (E1, E2).

82. Drug according to claim 81, where the dsRNA I shows the overhang on the 3' end of the one strand (as1) and/or on the 3' end of the other strand (ss1).

83. Drug according to claim 81 or 82, where the dsRNA I is formed smoothly on one end (E1, E2).

84. Drug according to claim 83 where the smooth end (E1, E2) contains the 5' end of the one strand (as1).

85. Drug according to one of the claims 81 to 84, where the overhang of 1 to 4 nucleotides is formed of preferably 1 or 2 nucleotides.

86. Drug according to one of the claims 81 to 85, where at least another dual stranded ribonucleic acid (dsRNA II) corresponding to the dsRNA I according to one of the claims 41 to 45, is inserted into the cell, where the one strand (as1) or at least a section of the one strand (as1) of the dsRNA I is complementary to a first area (B1) of the target gene, and where a further strand (as2) or at least a section of a further strand (as2) of the dsRNA II is complementary to a second area (B2) of the target gene.

87. Drug according to one of the claims 81 to 86, where the dsRNA I and/or the dsRNA II shows a length of less than 25, preferably 19 to 23, consecutive nucleotide pairs.

88. Drug according to one of the claims 81 to 87, where the first (B1) and the second area (B2) overlap or border on each other.

89. Drug according to one of the claims 81 to 88, where the first (B1) and the second area (B2) are kept apart.

90. Drug according to one of the claims 81 to 89, where the target gene shows one of the sequences SQ001 to SQ140.

91. Drug according to one of the claims 81 to 90, where the target gene is chosen from the following group: oncogenes, cytokine genes, Id-protein-genes, prion genes, genes from angiogenesis induced molecules, from adhesion molecules and from cell surface receptors, genes from proteins, that take part in metastasizing and/or invasive processes, genes from proteinases as well as apoptosis and cell cycle regulating molecules.

92. Drug according to one of the claims 81 to 91, where the target gene is the MDR1-gen.

93. Drug according to one of the claims 81 to 92, where as dsRNA I/II one of the sequences SQ141 -173 is used and one of two respective matching anti sense (as1/2) and sense sequences (ss1/2) combined dsRNA construct of the sequences SQ 141-173 is used.
94. Drug according to one of the claims 81 to 93, where the expression according to the principle of the RNA interference is inhibited.
95. Drug according to one of the claims 81 to 94, where the target gene is exprimated in pathogenic organisms, preferably in plasmodia.
96. Drug according to one of the claims 81 to 95, where the target gene is a part of a virus or viroid.
97. Drug according to claim 96, where the virus is a human pathogenic virus or viroid.
98. Drug according to claim 96, where the virus or viroid is an animal or plant pathogenic virus or viroid.
99. Drug according to one of the claims 81 to 98, where unpaired nucleotides are substituted with Nucleosidthiophospate.
100. Drug according to one of the claims 81 to 99, where at least one end (E1, E2) of the dsRNA I/II is modified no counteract a decomposition in the cell or a dissociation in the single strands.
101. Drug according to one of the claims 81 to 100, where the cohesion brought about through the complementary nucleotide pairs of the dual stranded structure is strengthened by at least one chemical bond.
102. Drug according to one of the claims 81 to 101, where the chemical bond is formed through a covalent or ionic bond, a hydrogen bond, hydrophobic interaction, preferably van-der-Waals- or batching interaction, or through metal-ion coordination.
103. Drug according to one of the claims 81 to 102, where the chemical bond in is formed the proximity of the one end (E1, E2).
104. Drug according to one of the claims 81 to 103, where the chemical bond is formed by means of one or more bonding groups, where the bonding groups are preferably poly- (oxyphosphinicooxy-1,3-propandiol) and/or oligoehtylenglycol chains.

105. Drug according to one of the claims 81 to 104, where the chemical bond is formed of branched nucleotide analogues instead of nucleotides.
106. Drug according to one of the claims 81 to 105, where the chemical bond is formed by purine analogues.
107. Drug according to one of the claims 81 to 106, where the chemical bond is formed by azabenzoyl units.
108. Drug according to one of the claims 81 to 107, where for the manufacturing of the chemical bond at least one of the following groups is used: methyl blue; bifunctional groups, preferably bis-(2-chloroethyl)-amine; N-acetyl-N'-(p-glyoxyl-benzoyl)-cystamin; 4-thiouracil; psoralen.
109. Drug according to one of the claims 101 to 108, where the chemical bond is formed by the thiosphoryl groups near the ends of the double stranded areas.
110. Drug according to one of the claims 101 to 109, where the chemical bond is produced by triple helix bonds near the ends (E1, E2).
111. Drug according to one of the claims 81 to 110, where the dsRNA I/II is enclosed in micellular structures preferably in liposomes.
112. Drug according to one of the claims 81 to 111, where the dsRNA I/II is connected to, associated with or surrounded by a viral cladding protein that is taken or derived from a virus or synthetically produced.
113. Drug according to one of the claims 81 to 112, where the cladding protein is derived from the polyoma virus.
114. Drug according to one of the claims 81 to 113, where the cladding protein contains the virus protein 1 (VP1) and or the virus protein 2 (VP2) of the polyoma virus.
115. Drug according to one of the claims 81 to 114, where the formation of a capsid or a capsid type structure from a cladding protein in which one side is turned to the inside of the capsid or capsid type structure.
116. Drug according to one of the claims 81 to 115, where the one strand (as1, as2) of the dsRNA I/II is complementary to the primary or the processed RNA transcript of the target gene.
117. Drug according to one of the claims 81 to 116, where the cell is a vertebrate cell or a human cell.

118. Drug according to one of the claims 81 to 117, where the dsRNA I/II is administered in an amount of at most 5 mg per kilogram of body weight per day in a mammal, preferably a human.
119. Drug according to one of the claims 81 to 118, where the dsRNA I/II is taken up by a buffer solution for application.
120. Drug according to one of the claims 81 to 119, where the dsRNA I/II is administered orally or by means of injection or intravenous infusion, intratumorally, by means of inhalation or intraperitoneally.

(Translators note: Claims 121 to 240 are in fact the same as 1 through 120)

121. Procedure for the inhibition of a target gene in a cell including the following the steps:

Insertion of a least on dual stranded ribonucleic acid (dsRNA I) in an amount large enough to inhibit the expression of the target gene,

Where the dsRNA I shows a dual stranded structure formed of at most 49 consecutive nucleotide pairs, and where one strand (as1) or at least one section of one strand (as1) of the double stranded structure is complementary to the target gene

And where the dsRNA at least on one end (E1, E2) of the dsRNA I shows a overhang formed of 1 to 4 nucleotide pairs.

122. Procedure according to claim 1, where the dsRNA I shows the overhang on the 3' end of the one strand (as1) and/or on the 3' end of the other strand (ss1).
123. Procedure according of claim 1 or 2, where the dsRNA I is formed smoothly on one end (E1, E2).
124. Procedure according to claim 3 where the smooth end (E1, E2) contains the 5' end of the one strand (as1).
125. Procedure according to one of the previous claims, where the overhang of 1 to 4 nucleotides is formed of preferably 1 or 2 nucleotides.
126. Procedure according to one of the previous claims, where at least another dual stranded ribonucleic acid (dsRNA II) corresponding to the dsRNA I according to the previous claims is inserted into the cell, where the one strand (as1) or at least a section of the one strand (as1) of the dsRNA I is complementary to a first area (B1) of the target gene, and where a further strand (as2) or at least a section of a further strand (as2) of the dsRNA II is complementary to a second area (B2) of the target gene.
127. Procedure according to one of the previous claims, where the dsRNA I and/or the dsRNA II shows a length of less that 25, preferably 19 to 23, consecutive nucleotide pairs.
128. Procedure according to one of the previous claims, where the first (B1) and the second area (B2) overlap or border on each other.

129. Procedure according to one of the previous claims, where the first (B1) and the second area (B2) are kept apart.
130. Procedure according to one of the previous claims, where the target gene shows one of the sequences SQ001 to SQ140.
131. Procedure according to one of the previous claims, where the target gene is chosen from the following group: oncogenes, cytokine genes, Id-protein-genes, prion genes, genes from angiogenesis induced molecules, from adhesion molecules and from cell surface receptors, genes from proteins, that take part in metastasizing and/or invasive processes, genes from proteinases as well as apoptosis and cell cycle regulating molecules.
132. Procedure according to one of the previous claims, where the target gene is the MDR1-gen.
133. Procedure according to one of the previous claims, where as dsRNA I/II one of the sequences SQ141 -173 is used and one of two respective matching anti sense (as1/2) and sense sequences (ss1/2) combined dsRNA construct of the sequences SQ 141-173 is used.
134. Procedure according to one of the previous claims, where the expression according to the principle of the RNA interference is inhibited.
135. Procedure according to one of the previous claims, where the target gene is exprimated in pathogenic organisms, preferably in plasmodia.
136. Procedure according to one of the previous claims, where the target gene is a part of a virus or viroid.
137. Procedure according to claim 16, where the virus is a human pathogenic virus or viroid.
138. Procedure according to claim 16, where the virus or viroid is an animal or plant pathogenic virus or viroid.
139. Procedure according to one of the previous claims, where unpaired nucleotides are substituted with Nucleosidthiophospate.
140. Procedure according to one of the previous claims, where at least one end (E1, E2) of the dsRNA I/II is modified no counteract a decomposition in the cell or a dissociation in the single strands.
141. Procedure according to one of the previous claims, where the cohesion brought about through the complementary nucleotide pairs of the dual stranded structure is strengthened by at least one chemical bond.

142. Procedure according to one of the previous claims, where the chemical bond is formed through a covalent or ionic bond, a hydrogen bond, hydrophobic interaction, preferably van-der-Waals- or stacking interaction, or through metal-ion coordination.
143. Procedure according to one of the previous claims, where the chemical bond is formed in the proximity of the one end (E1, E2).
144. Procedure according to one of the previous claims, where the chemical bond is formed by means of one or more bonding groups, where the bonding groups are preferably poly- (oxyphosphinicooxy-1,3-propandiol) and/or oligoethylenglycol chains.
145. Procedure according to one of the previous claims, where the chemical bond is formed of branched nucleotide analogues instead of nucleotides.
146. Procedure according to one of the previous claims, where the chemical bond is formed by purine analogues.
147. Procedure according to one of the previous claims, where the chemical bond is formed by azabenzoyl units.
148. Procedure according to one of the previous claims, where for the manufacturing of the chemical bond at least one of the following groups is used: methyl blue; bifunctional groups, preferably bis-(2-chloroethyl)-amine; N-acetyl-N'-(p-glyoxyl-benzoyl)-cystamin; 4-thiouracil; psoralen.
149. Procedure according to one of the previous claims, where the chemical bond is formed by the thiosphoryl groups near the ends of the double stranded areas.
150. Procedure according to one of the previous claims, where the chemical bond is produced by triple helix bonds near the ends (E1, E2).
151. Procedure according to one of the previous claims, where the dsRNA I/II is enclosed in micellular structures preferably in liposomes.
152. Procedure according to one of the previous claims, where the dsRNA I/II is connected to, associated with or surrounded by a viral cladding protein that is taken or derived from a virus or synthetically produced.
153. Procedure according to one of the previous claims, where the cladding protein is derived from the polyoma virus.

154. Procedure according to one of the previous claims, where the cladding protein contains the virus protein 1 (VP1) and or the virus protein 2 (VP2) of the polyoma virus.
155. Procedure according to one of the previous claims, where the formation of a capsid or a capsid type structure from a cladding protein in which one side is turned to the inside of the capsid or capsid type structure.
156. Procedure according to one of the previous claims, where the one strand (as1, as2) of the dsRNA I/II is complementary to the primary or the processed RNA transcript of the target gene.
157. Procedure according to one of the previous claims, where the cell is a vertebrate cell or a human cell.
158. Procedure according to one of the previous claims, where the dsRNA I/II is administered in an amount of at most 5 mg per kilogram of body weight per day in a mammal, preferably a human.
159. Procedure according to one of the previous claims, where the dsRNA I/II is taken up by a buffer solution for application.
160. Procedure according to one of the previous claims, where the dsRNA I/II is administered orally or by means of injection or intravenous infusion, intratumorally, by means of inhalation or intraperitoneally.
161. Application of a double stranded ribonucleic acid (dsRNA I) to inhibit the expression of a target gene in a cell,

where the dsRNA I shows a double stranded structure formed of at most 49 consecutive nucleotide pairs, and where one strand (as1) or at least a section of the one strand (as1) of the double stranded structure is complementary to the target gene,

and where the dsRNA I shows a overhang formed of 1 to 4 nucleotides at least on one end (E1, E2).

162. Application according to claim 41, where the dsRNA I shows the overhang on the 3' end of the one strand (as1) and/or on the 3' end of the other strand (ss1).
163. Application according to claim 41 or 42, where the dsRNA I is formed smoothly on one end (E1, E2).
164. Application according to claim 43 where the smooth end (E1, E2) contains the 5' end of the one strand (as1).

165. Application according to one of the claims 41 to 44, where the overhang of 1 to 4 nucleotides is formed of preferably 1 or 2 nucleotides.
166. Application according to one of the claims 41 to 45, where at least another dual stranded ribonucleic acid (dsRNA II) corresponding to the dsRNA I according to one of the claims 41 to 45, is inserted into the cell, where the one strand (as1) or at least a section of the one strand (as1) of the dsRNA I is complementary to a first area (B1) of the target gene, and where a further strand (as2) or at least a section of a further strand (as2) of the dsRNA II is complementary to a second area (B2) of the target gene.
167. Application according to one of the claims 41 to 47, where the dsRNA I and/or the dsRNA II shows a length of less than 25, preferably 19 to 23, consecutive nucleotide pairs.
168. Application according to one of the claims 41 to 47, where the first (B1) and the second area (B2) overlap or border on each other.
169. Application according to one of the claims 41 to 48, where the first (B1) and the second area (B2) are kept apart.
170. Application according to one of the claims 41 to 49, where the target gene shows one of the sequences SQ001 to SQ140.
171. Application according to one of the claims 41 to 50, where the target gene is chosen from the following group: oncogenes, cytokine genes, Id-protein-genes, prion genes, genes from angiogenesis induced molecules, from adhesion molecules and from cell surface receptors, genes from proteins, that take part in metastasizing and/or invasive processes, genes from proteinases as well as apoptose and cell cycle regulating molecules.
172. Application according to one of the claims 41 to 51, where the target gene is the MDR1-gen.
173. Application according to one of the claims 41 to 52, where as dsRNA I/II one of the sequences SQ141 -173 is used and one of two respective matching anti sense (as1/2) and sense sequences (ss1/2) combined dsRNA construct of the sequences SQ 141-173 is used.
174. Application according to one of the claims 41 to 53, where the expression according to the principle of the RNA interference is inhibited.
175. Application according to one of the claims 41 to 54, where the target gene is exprimated in pathogenic organisms, preferably in plasmodia.

176. Application according to one of the claims 41 to 55, where the target gene is a part of a virus or viroid.
177. Application according to claim 56, where the virus is a human pathogenic virus or viroid.
178. Application according to claim 56, where the virus or viroid is an animal or plant pathogenic virus or viroid.
179. Application according to one of the claims 41 to 58, where unpaired nucleotides are substituted with Nucleosidthiophosphate.
180. Application according to one of the claims 41 to 59, where at least one end (E1, E2) of the dsRNA I/II is modified no counteract a decomposition in the cell or a dissociation in the single strands.
181. Application according to one of the claims 41 to 60, where the cohesion brought about through the complementary nucleotide pairs of the dual stranded structure is strengthened by at least one chemical bond.
182. Application according to one of the claims 41 to 61, where the chemical bond is formed through a covalent or ionic bond, a hydrogen bond, hydrophobic interaction, preferably van-der-Waals- or batching interaction, or through metal-ion coordination.
183. Application according to one of the claims 41 to 62, where the chemical bond in is formed the proximity of the one end (E1, E2).
184. Application according to one of the claims 41 to 63, where the chemical bond is formed by means of one or more bonding groups, where the bonding groups are preferably poly- (oxyphosphinicooxy-1,3-propandiol) and/or oligoehtylenglycol chains.
185. Application according to one of the claims 41 to 64, where the chemical bond is formed of branched nucleotide analogues instead of nucleotides.
186. Application according to one of the claims 41 to 65, where the chemical bond is formed by purine analogues.
187. Application according to one of the claims 41 to 66, where the chemical bond is formed by azabenzoyl units.
188. Application according to one of the claims 41 to 67, where for the manufacturing of the chemical bond at least one of the following groups is used: methyl blue; bifunctional groups, preferably bis-(2-chloroethyl)-amine; N-acetyl-N'-(p-glyoxyl-benzoyl)-cystamin; 4-thiouracil; psoralen.

189. Application according to one of the claims 41 to 68, where the chemical bond is formed by the thiosphoryl groups near the ends of the double stranded areas.
190. Application according to one of the claims 41 to 69, where the chemical bond is produced by triple helix bonds near the ends (E1, E2).
191. Application according to one of the claims 41 to 70, where the dsRNA I/II is enclosed in micellular structures preferably in liposomes.
192. Application according to one of the claims 41 to 71, where the dsRNA I/II is connected to, associated with or surrounded by a viral cladding protein that is taken or derived from a virus or synthetically produced.
193. Application according to one of the claims 41 to 72, where the cladding protein is derived from the polyoma virus.
194. Application according to one of the claims 41 to 73, where the cladding protein contains the virus protein 1 (VP1) and or the virus protein 2 (VP2) of the polyoma virus.
195. Application according to one of the claims 41 to 74, where the formation of a capsid or a capsid type structure from a cladding protein in which one side is turned to the inside of the capsid or capsid type structure.
196. Application according to one of the claims 41 to 75, where the one strand (as1, as2) of the dsRNA I/II is complementary to the primary or the processed RNA transcript of the target gene.
197. Application according to one of the claims 41 to 76, where the cell is a vertebrate cell or a human cell.
198. Application according to one of the claims 41 to 77, where the dsRNA I/II is administered in an amount of at most 5 mg per kilogram of body weight per day in a mammal, preferably a human.
199. Application according to one of the claims 41 to 78, where the dsRNA I/II is taken up by a buffer solution for application.
200. Application according to one of the claims 41 to 79, where the dsRNA I/II is administered orally or by means of injection or intravenous infusion, intratumorally, by means of inhalation or intraperitoneally.

201. Drug for the inhibition of the expression of a target gene in a cell containing a double stranded ribonucleic acid (dsRNA I) in an amount that is sufficient to inhibition the expression of the target gene,
- where the dsRNA I shows a double stranded structure formed of at most 49 consecutive nucleotide pairs,
- and where one strand (as1) or at least a section of the one strand (as1) of the double stranded structure is complementary to the target gene,
- and where the dsRNA I shows a overhang formed of 1 to 4 nucleotides at least on one end (E1, E2).
202. Drug according to claim 81, where the dsRNA I shows the overhang on the 3' end of the one strand (as1) and/or on the 3' end of the other strand (ss1).
203. Drug according to claim 81 or 82, where the dsRNA I is formed smoothly on one end (E1, E2).
204. Drug according to claim 83 where the smooth end (E1, E2) contains the 5' end of the one strand (as1).
205. Drug according to one of the claims 81 to 84, where the overhang of 1 to 4 nucleotides is formed of preferably 1 or 2 nucleotides.
206. Drug according to one of the claims 81 to 85, where at least another dual stranded ribonucleic acid (dsRNA II) corresponding to the dsRNA I according to one of the claims 41 to 45, is inserted into the cell, where the one strand (as1) or at least a section of the one strand (as1) of the dsRNA I is complementary to a first area (B1) of the target gene, and where a further strand (as2) or at least a section of a further strand (as2) of the dsRNA II is complementary to a second area (B2) of the target gene.
207. Drug according to one of the claims 81 to 86, where the dsRNA I and/or the dsRNA II shows a length of less that 25, preferably 19 to 23, consecutive nucleotide pairs.
208. Drug according to one of the claims 81 to 87, where the first (B1) and the second area (B2) overlap or border on each other.
209. Drug according to one of the claims 81 to 88, where the first (B1) and the second area (B2) are kept apart.
210. Drug according to one of the claims 81 to 89, where the target gene shows one of the sequences SQ001 to SQ140.

211. Drug according to one of the claims 81 to 90, where the target gene is chosen from the following group: oncogenes, cytokine genes, Id-protein-genes, prion genes, genes from angiogenesis induced molecules, from adhesion molecules and from cell surface receptors, genes from proteins, that take part in metastasizing and/or invasive processes, genes from proteinases as well as apoptose and cell cycle regulating molecules.
212. Drug according to one of the claims 81 to 91, where the target gene is the MDR1-gen.
213. Drug according to one of the claims 81 to 92, where as dsRNA I/II one of the sequences SQ141 -173 is used and one of two respective matching anti sense (as1/2) and sense sequences (ss1/2) combined dsRNA construct of the sequences SQ 141-173 is used.
214. Drug according to one of the claims 81 to 93, where the expression according to the principle of the RNA interference is inhibited.
215. Drug according to one of the claims 81 to 94, where the target gene is exprimated in pathogenic organisms, preferably in plasmodia.
216. Drug according to one of the claims 81 to 95, where the target gene is a part of a virus or viroid.
217. Drug according to claim 96, where the virus is a human pathogenic virus or viroid.
218. Drug according to claim 96, where the virus or viroid is an animal or plant pathogenic virus or viroid.
219. Drug according to one of the claims 81 to 98, where unpaired nucleotides are substituted with Nucleosidthiophospate.
220. Drug according to one of the claims 81 to 99, where at least one end (E1, E2) of the dsRNA I/II is modified no counteract a decomposition in the cell or a dissociation in the single strands.
221. Drug according to one of the claims 81 to 100, where the cohesion brought about through the complementary nucleotide pairs of the dual stranded structure is strengthened by at least one chemical bond.
222. Drug according to one of the claims 81 to 101, where the chemical bond is formed through a covalent or ionic bond, a hydrogen bond, hydrophobic interaction, preferably van-der-Waals- or batching interaction, or through metal-ion coordination.

223. Drug according to one of the claims 81 to 102, where the chemical bond in is formed the proximity of the one end (E1, E2).
224. Drug according to one of the claims 81 to 103, where the chemical bond is formed by means of one or more bonding groups, where the bonding groups are preferably poly- (oxyphosphinicooxy-1,3-propandiol) and/or oligoethylenglycol chains.
225. Drug according to one of the claims 81 to 104, where the chemical bond is formed of branched nucleotide analogues instead of nucleotides.
226. Drug according to one of the claims 81 to 105, where the chemical bond is formed by purine analogues.
227. Drug according to one of the claims 81 to 106, where the chemical bond is formed by azabenzoyl units.
228. Drug according to one of the claims 81 to 107, where for the manufacturing of the chemical bond at least one of the following groups is used: methyl blue; bifunctional groups, preferably bis-(2-chloroethyl)-amine; N-acetyl-N'-(p-glyoxyl-benzoyl)-cystamin; 4-thiouracil; psoralen.
229. Drug according to one of the claims 101 to 108, where the chemical bond is formed by the thiosphoryl groups near the ends of the double stranded areas.
230. Drug according to one of the claims 101 to 109, where the chemical bond is produced by triple helix bonds near the ends (E1, E2).
231. Drug according to one of the claims 81 to 110, where the dsRNA I/II is enclosed in micellular structures preferably in liposomes.
232. Drug according to one of the claims 81 to 111, where the dsRNA I/II is connected to, associated with or surrounded by a viral cladding protein that is taken or derived from a virus or synthetically produced.
233. Drug according to one of the claims 81 to 112, where the cladding protein is derived from the polyoma virus.
234. Drug according to one of the claims 81 to 113, where the cladding protein contains the virus protein 1 (VP1) and or the virus protein 2 (VP2) of the polyoma virus.
235. Drug according to one of the claims 81 to 114, where the formation of a capsid or a capsid type structure from a cladding protein in which one side is turned to the inside of the capsid or capsid type structure.

236. Drug according to one of the claims 81 to 115, where the one strand (as1, as2) of the dsRNA I/II is complementary to the primary or the processed RNA transcript of the target gene.
237. Drug according to one of the claims 81 to 116, where the cell is a vertebrate cell or a human cell.
238. Drug according to one of the claims 81 to 117, where the dsRNA I/II is administered in an amount of at most 5 mg per kilogram of body weight per day in a mammal, preferably a human.
239. Drug according to one of the claims 81 to 118, where the dsRNA I/II is taken up by a buffer solution for application.
240. Drug according to one of the claims 81 to 119, where the dsRNA I/II is administered orally or by means of injection or intravenous infusion, intratumorally, by means of inhalation or intraperitoneally.